

## COMITETUL DE REDACȚIE

### Redactor responsabil:

Academician EUGEN A. PORA

### Redactor responsabil adjuncț:

R. CODREANU, membru corespondent al Academiei Republicii Socialiste România

### Membri:

M. A. IONESCU, membru corespondent al Academiei Republicii Socialiste România; MIHAI BĂCESCU, membru corespondent al Academiei Republicii Socialiste România; OLGA NECRASOV, membru corespondent al Academiei Republicii Socialiste România; GR. ELIESCU, membru corespondent al Academiei Republicii Socialiste România; MARIA CALOIANU — *secretar de redacție*.

Prețul unui abonament este de 90 de lei.

În țară abonamentele se primesc la oficiile poștale, agențiile poștale, factorii poștali și difuzorii de presă din întreprinderi și instituții. Comenzile de abonamente din străinătate se primesc la Întreprinderea ROMPRESFILATELIA, Căsuța poștală 2001, telex 011631, București, România, sau la reprezentanții săi din străinătate.

Manuscrisele, cărțile și revistele pentru schimb, precum și orice corespondență se vor trimite pe adresa Comitetului de redacție al revistei „Studii și cercetări de biologie — Seria zoologie”.

APARE DE 6 ORI PE AN

ADRESA REDACȚIEI:  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR. 298  
BUCUREȘTI

BIOL. INV. 82

# Studii și cercetări de BIOLOGIE

## SERIA ZOOLOGIE

TOMUL 25

1973



### S U M A R

	Pag.
MARIA NĂSTĂSESCU, Contribuții la studiul tricladei <i>Dugesia lugubris</i> (O. Schmidt 1860) . . . . .	203
NICOLAE MIHAIL și MIRCEA RUSU, Puncte de vedere moderne în histochimie . . . . .	211
DRAGOȘ SCRIPCARIU și RADU MEȘTER, Studiul electroforetic al unor enzime în cursul primelor stadii de dezvoltare la embrionii haploizi și diploizi de <i>Rana ridibunda</i> . . . . .	223
CONSTANȚA MATEI-VLĂDESCU, GH. APOSTOL, N. BARBU, ELISABETA IONESCU și VALERIA RĂDĂCEANU-ARICESCU, Efectele L. glutamatului monosodic la puii de găină . . . . .	233
GH. NĂSTĂSESCU și ELENA NIȚESCU, Influența tioureei și a tiroxinei asupra metabolismului energetic la două specii de păsări sălbatice: <i>Columba livia domestica</i> Gm. și <i>Streptopelia decaocto decaocto</i> Friv. . . . .	245
HORST KOLASSOVITS, Acțiunea nembutalului asupra unor parametri sangvini la iepure . . . . .	253
MIHAI DUMITRU, Variația sezonieră a magneziei la rumegătoare . . . . .	257
N. STĂNCIOIU și V. ȘERBĂNESCU, Modificarea numărului de eritrocite și a cantității de hemoglobină sub acțiunea glutatului administrat șobolanilor supuși la efort muscular . . . . .	263
C. PORTELLI, Acțiunea curentului electric sinusoidal cu frecvența de 400 Hz asupra cordului de broască . . . . .	269
CLAUDIU TUDORANCEA, VIOREL DOBRESU, GH. FURNICĂ, ELISABETA DOBRESU și I. DIACONU, Observații privind capacitatea de acumulare a <sup>57</sup> Co de către <i>Anodonta piscinalis</i> în condiții de laborator . . . . .	281
DINU PARASCHIVESCU, Un nou tip de instalație experimentală pentru studierea formicidelor cu unul sau mai multe cuiburi . . . . .	289
IN MEMORIAM . . . . .	293
RECENZII . . . . .	295

St. și cerc. biol., seria zoologie T. 25 Nr. 3 P. 201—300 București 1973

CONTRIBUȚII LA STUDIUL TRICLADEI *DUGESIA*  
*LUGUBRIS* (O. SCHMIDT 1860)

DE

MARIA NĂSTĂSESCU

In this paper, the morfological, anatomical and histological characters of *Dugesia lugubris* species are presented.

The ecology and geographic distribution of this species which is spread, on the territory of our country, in the plain waters is also pointed out.

Lucrarea de față relevă caracterele morfologice, anatomice și histologice care definesc specia *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860) (Tricladida-Paludicola) prezentă în apele noastre de la șes.

Semnalind ecologia și răspîndirea ei în țara noastră, întregim cunoștințele asupra acestei forme exclusiv europene.

*Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860)

Sin. *Fasciola torva* O. F. Müller partim  
*Planaria lugubris* O. Schmidt 1861  
*Euplanaria lugubris* Hesse 1897

Stațiuni de colectare :

*Delta Dunării : japșe, ostrovul Maliuc*, 8. VIII. 1972, temperatura apei 20°C, 3 exemplare imature ; *ghiolul Fortuna și mila* 26, 9. VIII. 1967, temperatura apei 21°C, 8 indivizi ; *gîrla Împușita*, 20. VI. 1963, 31. VII. 1963, 31. III. 1965, 16. VI. 1965, 21. VI. 1965, 21. VII. 1965, 20. VIII. 1965, 18. IX. 1965, 29. X. 1965, 23. XI. 1965. (legit : V. Popescu-Marinescu și V. Zinevici) ; *ghiolul Porcu*, 31. VII. 1965, 1. VIII. 1963, 30. VIII. 1963, 13. VII. 1964, 21. XII. 1965, numeroase exemplare (legit : V. Popescu-Marinescu și V. Zinevici) ; *Milea*, insula Sahalin, 26. VII. 1967, 5. VIII. 1967, 10. VIII. 1970, temperatura apei 28°C, multe exemplare ; *baltă la capătul satului Sfîntul Gheorghe*, în drum spre mare,



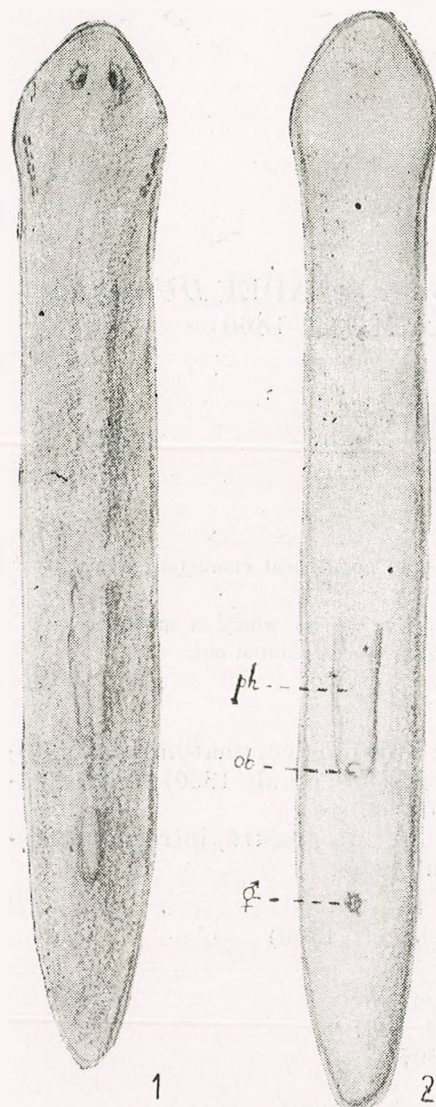


Fig. 1 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860) baltă Sfintul Gheorghe, vedere dorsală, pe viu.

Fig. 2 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860) baltă Sfintul Gheorghe, vedere ventrală, pe viu.

#### Abrevieri

agc, atriu genital comun; am, atriu mascul; bc, bursă copulatoare; bp<sub>1</sub>, primul bulb penian; bp<sub>2</sub>, al doilea bulb penian; cb, canalul bursei; cd, canalul deferent; ce, canalul ejaculator; dp, dilatare proximală; mc, musculatură circulară; ml, musculatură longitudinală; ob, orificiul bucal; od, oviduct; ph, faringe; pp, papila peniană; vs, vezicula seminală; ♀, orificiul hermafrodit.

28.VII.1968, 4.VIII.1967, temperatura apei 21°C și baltă la capătul opus al satului, 29. VII. 1967, temperatura apei 29°C, numeroase exemplare.

*Lunca Siretului*: baltă Cătușă, 20. VII. 1967 și 15. VI. 1968, temperatura 20°C, mulți indivizi.

*Dobrogea*: lacul Mangalia, izvor cu vegetație, 17. X. 1968 și izvor calcaros 14. XI. 1971, temperatura apei 10–12°C, numeroase exemplare.

*Cîmpia Română*: baltă Titu, lângă șosea spre gară, 4. IV. 1967, temperatura apei 13°C, 20 exemplare; baltă lângă stațiunea-pilot Băneasa-Giurgiu, 13. VII. 1972, temperatura apei 28°C, mulți indivizi; *Cîșmigiu*, izvor, 18. VI. 1967, 19. X. 1969, 13. III. 1972, temperatura apei 9°C, numeroase exemplare.

*Material*: observații pe viu, 7 serii de secțiuni seriate frontale, 6 sagitale și 2 serii de secțiuni seriate transversale (secțiuni de 3–5 μ colorate cu hematoxină Heidenheimer-eritrozină sau eosină).

*Organizație*: pe viu animalele au 0,8–2,2 cm lungime și 0,1–0,35 cm lățime (în regiunea faringiană).

Corpul greoi, capul subtriunghiular cu marginea anterioară rotunjită și lobii laterali lărgiți și teșiți. Organele auriculare sînt reprezentate prin linii clare și paralele cu latura posterioară a lobilor laterali. De la cap pînă în regiunea aparatului copulator animalul are aproximativ același diametru, după care se îngustează terminîndu-se larg rotunjit (fig. 1–2).

Dorsal, de culoare maro închis spre negru, *Dugesia lugubris* prezintă 2 ochi mari, înconjurați de 2 pete albe depigmentate, situați destul de aproape de marginea frontală a capului. Prin transparența corpului se vede faringele care începe imediat sub mijlocul corpului și regiunea copulatoare ca o pată albă alungită.

Ventral, la sfîrșitul celei de-a treia pătrimi a corpului se observă orificiul bucal, iar la mijlocul distanței dintre el și capătul posterior al corpului orificiul genital comun (fig. 1–2).

Epiteliul corpului, teaca musculo-cutană și structura faringelui este tipică de planariid.

Cele două ovare se găsesc situate între perechea a 2-a și a 3-a de diverticule intestinale anterioare, iar foliculii testiculari sînt dorsali, mai numeroși în regiunea prefaringiană.

Spre deosebire de *Dugesia cretica* (Meixner) 1928 (15) ca și la *Dugesia gonocephala* Dugès 1830 \* la cea de-a 3-a specie a genului, *Dugesia lugubris*, răspîdită în țara noastră, în structura aparatului copulator lipsește organul musculo-glandular.

Penisul cilindric prezintă un bulb caracteristic divizat în două părți, alcătuite din strate alternante de musculatură circulară și longitudinală, precum și o papilă alungită (fig. 3–5, pl. I, fig. 6–8, pl. II, fig. 9). Cele două canale deferente, care pătrund prin părțile laterale ale bulbului, se deschid în vezicula seminală, sferică, cu epiteliul glandular, înconjurată de primul bulb al penisului. Canalul ejaculator care urmează, prezintă o dilatare proximală cu numeroase glande eozinofile care se deschid în epiteliul ei, învelită de cel de-al doilea bulb mai bine dezvoltat, piriform, musculos, net diferențiat de primul. Datele noastre în legătură cu structura bulbului penian și a canalului ejaculator confirmă observațiile lui Böhmig, Maria Luisa Funaioli, Komarek, Luther și O. Schmidt (6), (7), (11), (12), (16) și credem că dilatarea inițială a canalului ejaculator descrisă la această specie corespunde celei de a 2-a vezicule seminale dată de Beauchamp la *Dugesia lugubris* (5).

Papila peniană, destul de alungită, învelită de un epiteliu turtit cu nucleu sferic, este străbătută de numeroase canale glandulare care se deschid în canalul ejaculator subțire, care o traversează, la diferite nivele (fig. 3–5).

Atriu genital, la unele exemplare (fig. 4) este perfect divizat în atriu mascul și atriu genital hermafrodit, la altele (fig. 5) această separare nu este distinctă.

Bursa copulatoare (fig. 3–5, pl. I, fig. 6), lobată neregulat sau saciformă, prezintă un epiteliu glandular și peretele extern muscular. Pedunculul ei (fig. 3–5, pl. II, fig. 9–11), căptușit cu un epiteliu relativ înalt și infranucleat, dublat de un strat gros de musculatură circulară, urmat de cea longitudinală mai puțin dezvoltată, curbîndu-se ventral, se deschide în atriu genital comun. Porțiunea distală a canalului bursei, prevăzută cu un epiteliu înalt, numeroase glande și musculatură bogată constituie vaginul bine diferențiat.

Ca și la *Dugesia gonocephala* și *Dugesia cretica*, la specia prezentă cele două oviducte se deschid separat în pedunculul bursei (fig. 3–5, pl. II, fig. 11).

Toate căile aparatului copulator sînt căptușite de un strat muscular dublu: circular și longitudinal.

Coconii sînt rotunzi, pedunculați, cu diametru de 1,21–1,38 mm, la depunere alburii, apoi se închid la culoare devenind maron închis spre negru.

\* Năstăsescu Maria, *The study of Dugesia gonocephala Dugès 1830 (Tricladida-Paludicola) from Romanian waters*, Analele Univ. Buc. (sub tipar).



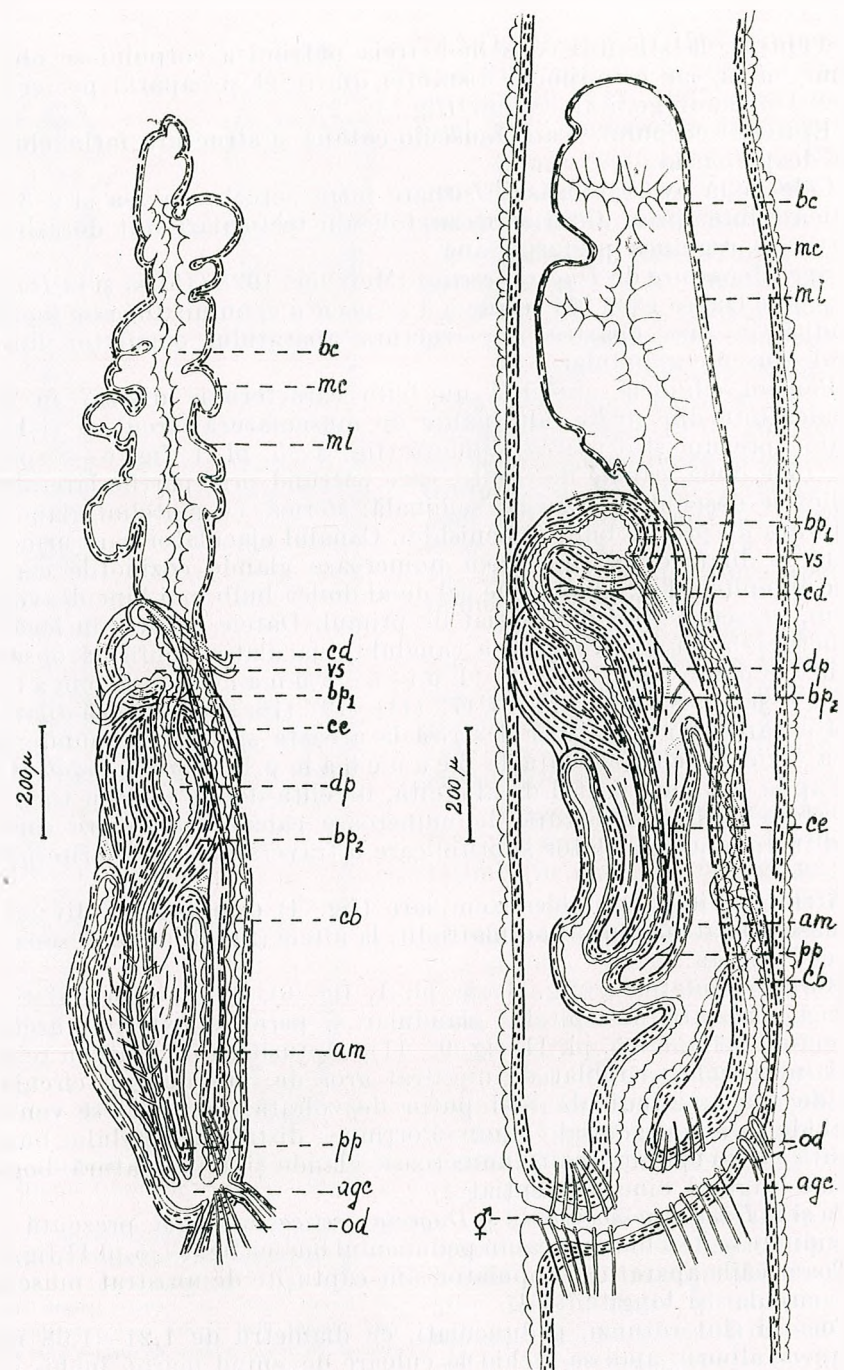


Fig. 3 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860), baltă Sfintul Gheorghe, regiunea copulatoare, reconstituire după secțiuni seriate frontale.

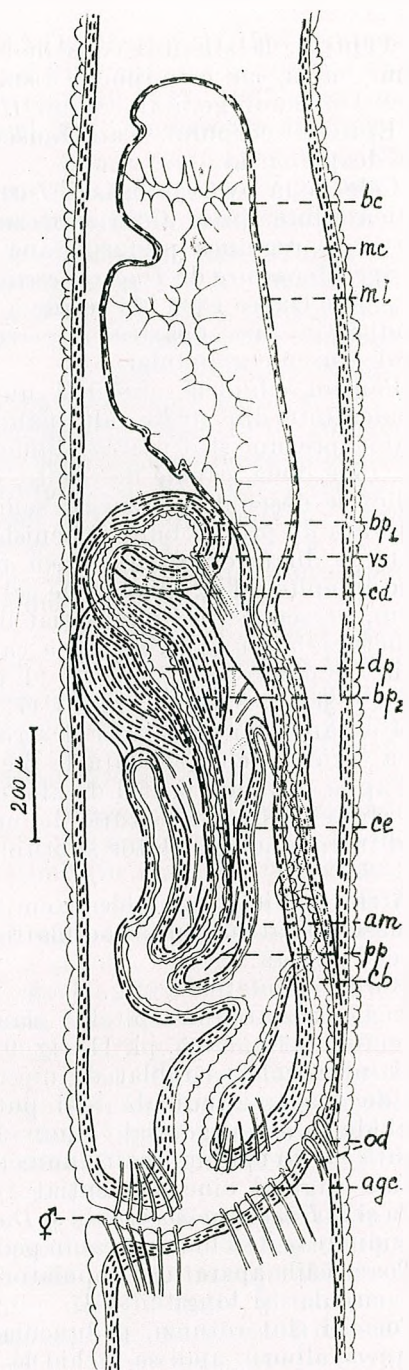


Fig. 4 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860), baltă Sfintul Gheorghe, regiunea copulatoare, reconstituire după secțiuni seriate sagitale.

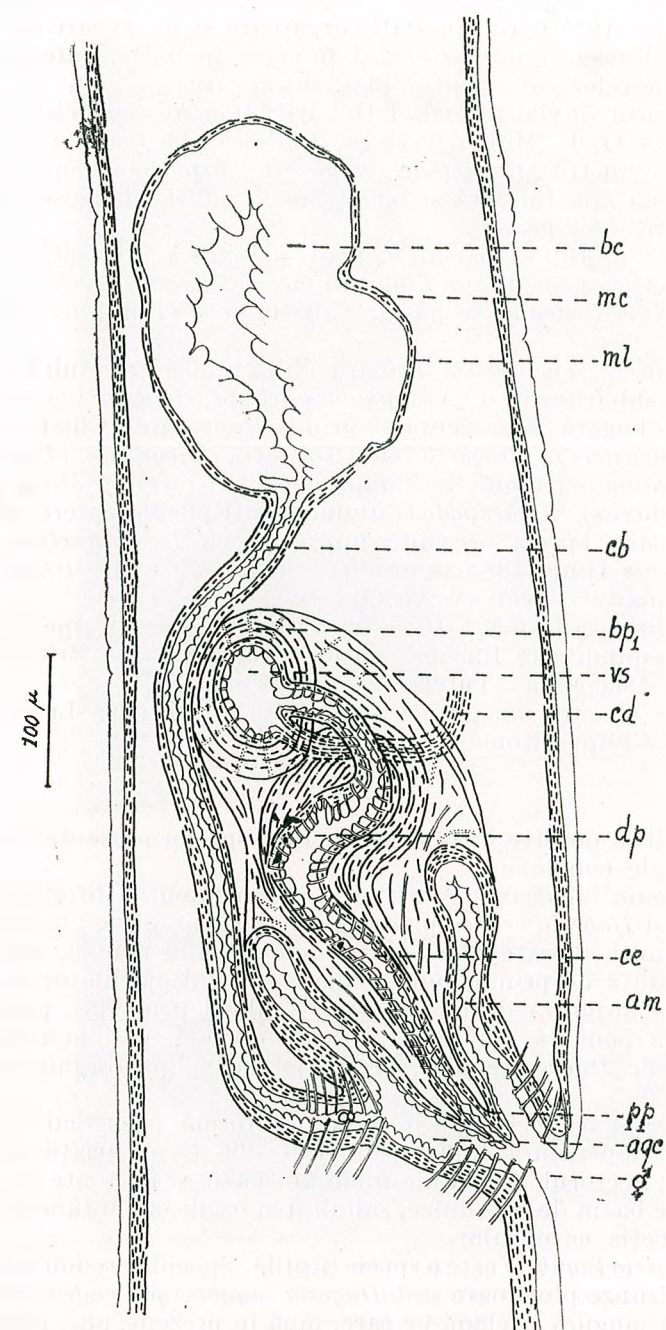


Fig. 5 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860), izvor lacul Mangalia, regiunea copulatoare, reconstituire după secțiuni seriate sagitale.



**Observații ecologice:** *Dugesia lugubris* este o specie răspândită, în special, în ape stătătoare sau slab curgătoare și în izvoare de la șes. Ea se găsește de obicei, în număr destul de mare, pe partea inferioară a frunzelor și a pietrelor sau printre plantele acvatice.

În sectorul fluvial al Deltei Dunării, *Dugesia lugubris* împreună cu *Planaria torva* O. F. Müller 1773 și *Dendrocoelum lacteum* O. F. Müller 1773, ca și multe Hirudinee (*Glossosiphonia*, *Nephelis*), populează japșele și ghiolurile cu apă liniștită și bogate în vegetație, îndeosebi *Nymphaea alba* și *Nymphoides peltata*.

În sectorul fluvio-marin, inclusiv porțiunea îndulcită a melelelor, *Dugesia lugubris*, asociată cu *Planaria torva*, *Dugesia tigrina* Girard 1850 și *Dendrocoelum lacteum*, se găsește în canalele și brațele principale, ca și în plaur.

În bazinele cu apă stătătoare din Lunca Siretului și Cîmpia Română, pe sub frunzele de *Nymphoides peltata*, *Dugesia lugubris* coexistă cu o faună bogată reprezentată prin: Protozoare (Ciliare), Spongieri (*Spongilla lacustris*), Trochelminti (Rotiferi), Hirudinee (*Haemopsis sanguisuga*), Briozoare (colonii de *Plumatella* și *Cristatella*), Moluște (Limnea, Radix, Acrolorus), Arthropode (Gammaride, Ephemeroptere, Plecoptere).

În izvoare, specia prezintă împreună cu *Dendrocoelum lacteum* și *Polycelis tenuis* Ijima 1884 se găsește, fie pe sub pietre (izvor calcaros), fie printre plante (izvor cu vegetație).

**Răspîndire geografică:** *Dugesia lugubris* este, în special, o formă europeană răspîndită în Europa continentală și Insulele Britanice (1, 4, 6, 8—12, 17); Asia Mică: Turcia (2).

În țara noastră am găsit-o în Delta Dunării (13), Lunca Siretului, Dobrogea și Cîmpia Română (14).

#### CONCLUZII

Cercetările noastre întreprinse asupra speciei prezente ne-au condus la următoarele concluzii:

1. *Dugesia lugubris* este o specie independentă, diferită de *Dugesia gonocephala* și *Dugesia cretica* prin următoarele caractere: forma capului și a organelor auriculare, culoare, structura bulbului penian, vezicula seminală înconjurată de primul bulb penian, canalul ejaculator cu o dilatare proximală înconjurată de un al doilea bulb al penisului, piriform, muscular; papila peniană alungită, testicule dorsale, mai numeroase prefaringiene; și de *Dugesia cretica*, în special, prin lipsa organului musculo-glandular.

2. *Dugesia lugubris* este o specie euritermă și eurihalină, suportînd oscilații de temperatură cuprinse între 9—29° C și variații de salinitate, pentru că în sectorul predeltaic unde am găsit-o, cu toate că predomină caracterul de bazin de apă dulce, salinitatea oscilează în funcție de intensitatea și direcția curentului.

3. *Dugesia lugubris* este o specie fitofilă. Speciile predominante printre plantele cu frunze plutitoare sînt *Dugesia lugubris* și *Dendrocoelum lacteum*.

4. Este singura tricladă pe care, pînă în prezent, am găsit-o în extrema răsăriteană a melelei Sfîntul Gheorghe (malul apusean al Insulei Sahalin).

(Avizat de prof. R. Codreanu.)

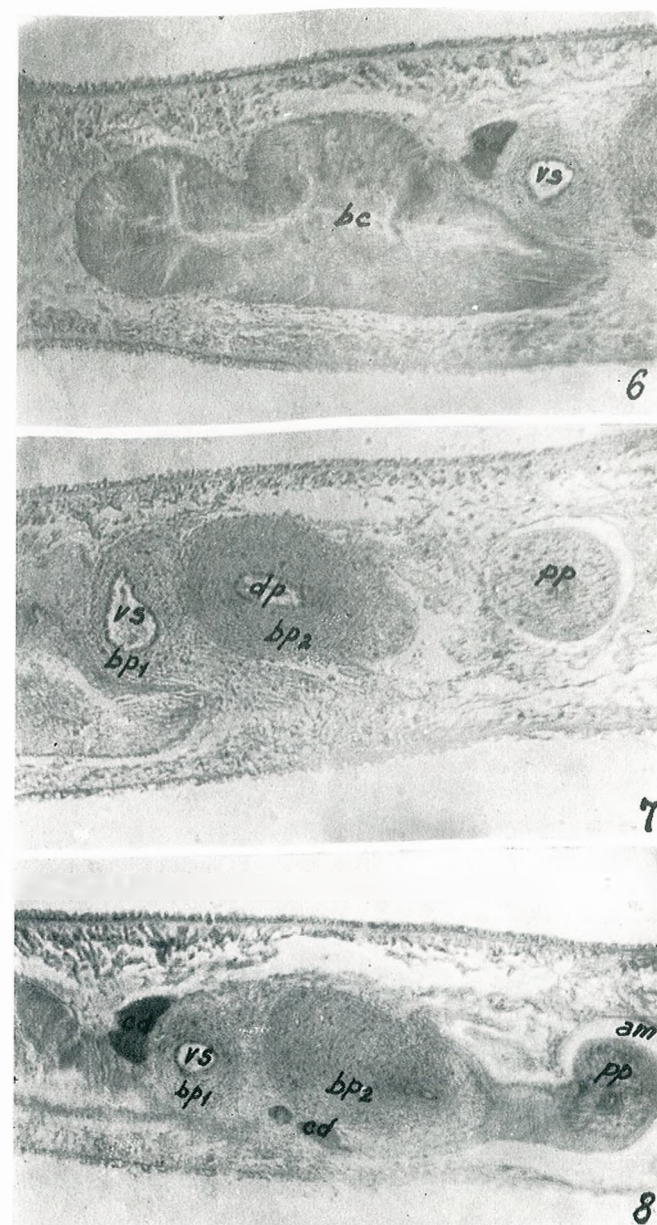


Fig. 6 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860), baltă Sfîntul Gheorghe, secțiune sagitală la nivelul bursei copulatoare și veziculei seminale.

Fig. 7—8 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860), baltă Sfîntul Gheorghe, secțiuni sagitale la nivelul regiunii copulatoare.



## CONTRIBUTIONS TO THE TRICLADIDA STUDY

(DUGESIA LUGUBRIS (O. SCHMIDT 1860))

## SUMMARY

In this paper, there is states that *Dugesia lugubris* (Tricladida-Paludicola) is an independent species, which differs of *Dugesia gonocephala* Dugès 1830 and *Dugesia cretica* (Meixner) 1928, by the following characters: the head shape and of the auricular organes, the colour, the structure of the penial bulb, the seminal vesicle surrounded by the first penial bulb, the ejaculatory duct with a proximal dilatation coated by the second, muscular, penial bulb; the penial papilla oblong, the dorsal testicular follicles. Especially, this species differs from *Dugesia cretica* by the lack of the musculo-glandular organ.

*Dugesia lugubris* is a species which lives in the stagnant or slowly running waters and in the sources from the plain. We found this species, in our country, in Danube Delta, Siret plain, Dobroudja and the Rumanian plain. It is an eurytherme and euryhaline species, which it is found either on the posterior part of the leaves and stones, or through the aquatic plants. The predominant species among the plants with the floating leaves are *Dugesia lugubris* and *Dendrocoelum lacteum*.

Up to the present, *Dugesia lugubris* is the only Tricladid species that we found on the western shore of the Sahalin Island.

## BIBLIOGRAFIE

1. AN DER LAN H., 1962, Arch Hydrobiol. suppl. Donauforschung, **27**, 1, 3-27.
2. BEAUCHAMP P., de 1934, Bull. Soc. Zool. de France, **59**, 203-209.
3. — 1937, Bull. Soc. Zool. de France, **60**, 351-366.
4. — 1947, Rev. Sci. Nat. d'Auvergne, **13**, 8-13.
5. — 1961, Classe des Turbellaries. In *Traité de Zoologie*, Masson et Cie, Paris, 35-212.
6. BOHMING A. G., 1909, Süßwasserfauna Deutschland, **19**, 143-176.
7. FUNAIOLI M. L., 1951, Atti Soc. Tosc. Scia. Nat. B, **58**, 77-84.
8. GELEI J. V., 1928, Acta Biologica, **1**, 1, 1-16.
9. GRAFF L. von, 1912-1917, *Tricladida*. In Dr. H. G. Bronn's *Klaussen und Ordnungen de Tierreichs*, **4**, 10, 2601.
10. HOFFMAN A., 1964, Archives, **30**, 181-261.
11. KOMAREK J., 1925, Zool. Anz., **64**, 29-34.
12. LUTHER A., 1961, Fauna Fennica, **11**, 4-42.
13. MACK-FIRA V., NĂSTĂSESCU M., 1972, Archiv für Hydrobiologie, **6**.
14. MOTAŞ C., BOTOŞĂNEANU L., NEGREA ŞT., 1962, *Cercetări erenobinonte şi freatologice din partea centrală a Cîmpiei Române*, Edit. Academiei, Bucureşti.
15. NĂSTĂSESCU M., 1972, Stud. şi cerc. biol., Seria zoologie, **24**, 6, 513-519.
16. SCHMIDT O., 1861, Zeitschr. f. wissensch. zoologie, **11**, 89-94.

Facultatea de biologie  
Laboratorul de zoologia nevertebratelor  
Bucureşti 35, Splaiul Independenţei 91-95

Primit în redacţie la 27 decembrie 1972

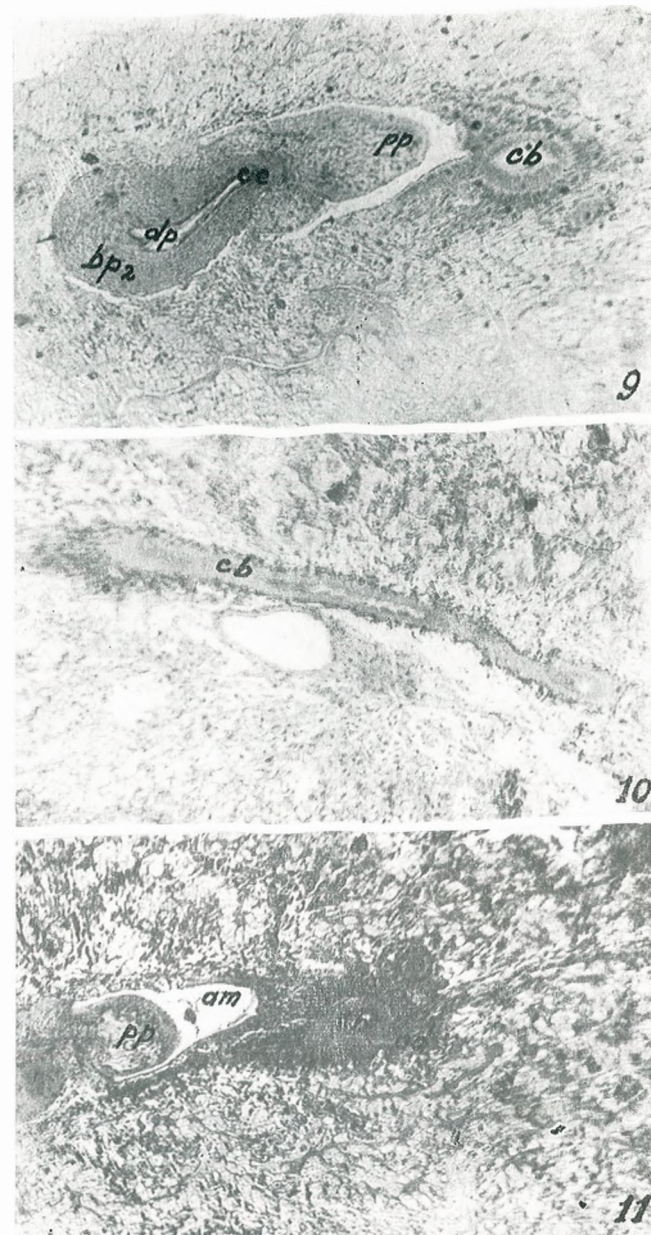


Fig. 9 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860). izvor lacul Mangalia, secţiune frontală prin regiunea copulatoare.

Fig. 10 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860.) baltă Sfintul Gheorghe, secţiune frontală la nivelul canalului bursei.

Fig. 11 — *Dugesia lugubris* (O. Schmidt 1860.) izvor lacul Mangalia, secţiune frontală cu deschiderea oviductului sting în canalul bursei.



## PUNCTE DE VEDERE MODERNE ÎN HISTOCHIMIE

DE

NICOLAE MIHAIL și MIRCEA RUSU

The report delimits notions, enumerates principles and systematizes histochemical reactions. The newest is given about techniques and preparation of slices and quantitative histochemistry observing always the complex substratum of the tissue slice. As a conclusion there are some appreciations on possibilities and limits of histochemistry.

Histochimia este privită de mulți biologi și medici ca o ramură juvenilă a histologiei, în care nu poți avea prea mare încredere, atât pentru rezultatele pe care le dă și cu atât mai puțin ca metodă de cercetare.

Pe lângă faptul însă că mulțumită ei și a microscopiei electronice morfologia mai are rangul unei discipline moderne, alături de fiziologie, biochimie, genetică și microbiologie, ne propunem să examinăm critic posibilitățile acestei discipline, precum și fenomenele la a căror elucidare ar putea contribui.

Pentru înțelegerea funcțiilor biologice, este de importanță capitală legătura dintre structură și funcție, adică putința de a referi la o structură dată o etapă a metabolismului acesteia. În multe cazuri, lucrul acesta este ușor realizabil cu ajutorul histochimiei. Astfel, putem pune ușor în evidență fosfataza alcalină în epiteliul vilozităților intestinale, nu însă și în criptele intestinale. Biochimic, această localizare ar fi foarte greu de evidențiat. Histochimia este superioară acolo, unde se cere o localizare a fenomenelor metabolice. Biochimistul nu se folosește de secțiuni, ci de omogenate, care dau valori medii ale diferitelor componente, iar legătura dintre o structură și o enzimă, de exemplu, se face foarte greu. În decursul unei cercetări biochimice ar trebui luat în considerare aspectul morfologic și structural al organului cercetat, pentru a face o sinteză mai bună a rezultatelor. Histochimia dă în asemenea cazuri nemijlocit și intuitiv rezultatul.



Indiferent cu ce metodă și în ce probleme se examinează un obiect biologic, este totdeauna interesant de a-i cunoaște chimismul și structura, deci topochimia. Astfel, procesele chimice dintr-un organism nu mai sînt privite ca și cum s-ar petrece într-o eprubetă, ci se face legătura între funcție și substratul ei structural. Invers, orice structură histologică trebuie pusă în legătură cu aspectele ei funcționale și dinamice. Astfel, de la un stadiu descriptiv incomplet se trece la expuneri cauzal-explicative. Metodele histochemice dau, în primul rînd, posibilitatea să ne lămurim asupra unei funcții cercetate referitoare la structură. Metodele histologiei clasice evidențiază și caracterizează coloristic componente tisulare și celulare. La baza acestor procese stau fenomene fizico-chimice, în cea mai mare parte necunoscute. Aici se pune în evidență aspectul, adesea asociat cu criterii estetice, iar cauzalitatea rămîne în umbră. Privind istoric evoluția lucrurilor, termenii de cromofil, cromofob, acidofil și bazofil caracterizau afinități tinctoriale care au fost lămurite experimental și cauzal de-abia mult mai tîrziu. Azi, o secțiune de țesut poate fi colorată cu coloranți acizi sau bazici, modificînd tehnica.

Cea mai veche reacție histochemică datează din 1859 și constă în punerea în evidență a glicogenului, cu ajutorul iodului. Mecanismul ei a fost elucidat mult mai tîrziu. Astăzi, cunoașterea acidofiliei și a bazofiliei dă indicații histochemice și multe metode histologice, pe măsură ce li s-a descoperit cauzalitatea și specificitatea, au fost preluate de histochimie.

Histochimia nu constă doar din reacții de control, ci se ocupă mai ales de culegerea de informații, aplicînd chimia pe țesut. În caz ideal, este o biochimie *in situ*. Calitatea reprezentării topografice hotărăște caracteristicile și legitățile noii discipline. Histologic, se caută să se mențină, pe cît se poate, structura, iar chimic distribuția substanțelor urmărite, fără a pierde nimic. Spre deosebire de biochimie, produsul de reacție trebuie să fie insolubil și colorat. Acesta se numește pigment, iar nașterea și creșterea sa se face prin așa-ziii germeni.

Unele manuale de histochimie medicală au adoptat chiar un sistem de „cheie”, adică un șir de examene, cu o succesiune dependentă de rezultatul anterior, pentru a face un examen complex histopatologic. Ţelurile, valoarea informațională, erorile și cîteva puncte de vedere critice, reies mai bine din sistematizarea expunerii noastre, pornind de la principiile de bază.

#### PRINCIPIILE DE BAZĂ ALE HISTOCHEMIEI

1) Cunoașterea mersului reacției și conducerea ei, astfel ca produsul să poată fi utilizat după specificul microscopiei;

2) Țesutul este un substrat complex, ale cărui substanțe se influențează reciproc, pînă ajung pe lamă. Pe acest substrat, se acționează cu mai mulți reactivi, ceea ce dă modelului chimic un cadru deosebit;

3) Produsul de reacție, colorat, transparent și insolubil, în tratamentele de finisare ale preparatului trebuie să fie legat histologic de substrat și să ne indice fie prezența unei substanțe, fie un proces metabolic sau starea țesutului.

#### TRATAMENTUL PRELIMINAR AL ȚESUTULUI

- 1) Țesutul proaspăt (nativ);
- 2) Țesutul congelat sau liofilizat;
- 3) Țesutul fixat chimic.

1) Țesutul proaspăt (nativ) prelevat se fixează cu ciment Duco, pe măsuta microtomului *tissue sectioner* (fig. 1), care taie cupe începînd cu 20μ grosime, printr-o mișcare de du-te-vino, sau prin vibrația cuțitului. Cupe mai subțiri și mai bune se pot obține după învelirea țesutului (nu includerea) în agar-agar sau gelatină.

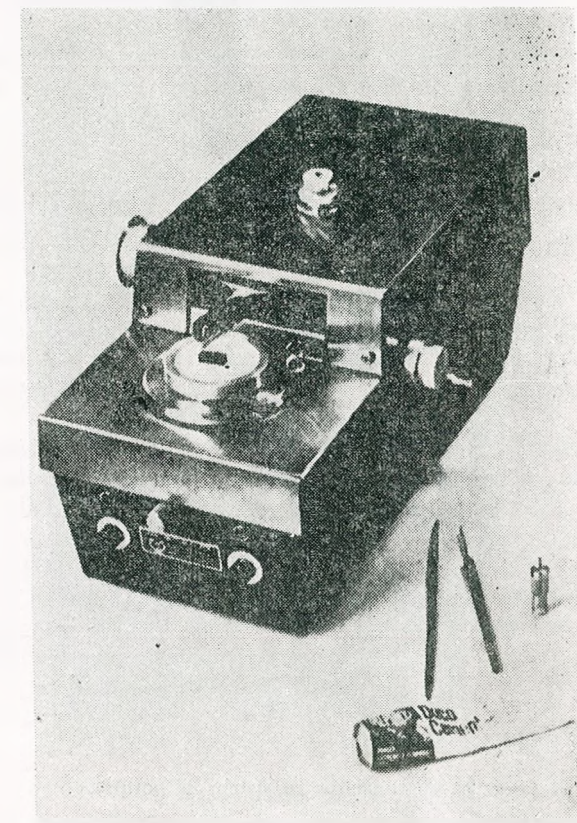


Fig. 1. — Microtom *tissue sectioner*.

2) Țesutul congelat sau liofilizat. Congelarea rapidă se face cu izopentan (metilbutan) sau propan, răcit în prealabil cu azot lichid. Procesul de congelare se accelerează dacă în hidrocarburi se adaugă talc. Se obține astfel o temperatură de  $-170^{\circ}\text{C}$ . Țesutul îngheață și se vitrifică, fără a se forma cristale, în 10 pînă la 30 de secunde. Înghețarea mai lentă



duce la modificări de concentrație a diferitelor lichide, fenomene de osmoză, cristale anizotrope de gheață care produc rupturi etc.

Izopentanul lichid nu permite să se formeze un strat de bule de gaz, izolatoare, pe suprafața bucății de țesut (fenomenul Leydenfrost).

După congelarea rapidă, țesutul trebuie păstrat sub punctul eutectic ( $-60^{\circ}\text{C}$ ). La  $-80^{\circ}\text{C}$  se poate păstra timp îndelungat, în aparate speciale cu elemente Peltier, unde se și liofilizează (fig. 2). Este preferabil ca liofilizarea să nu se facă la vid, tot pentru păstrarea integrității țesutului. După liofilizare, țesutul se poate include chiar și în parafină.

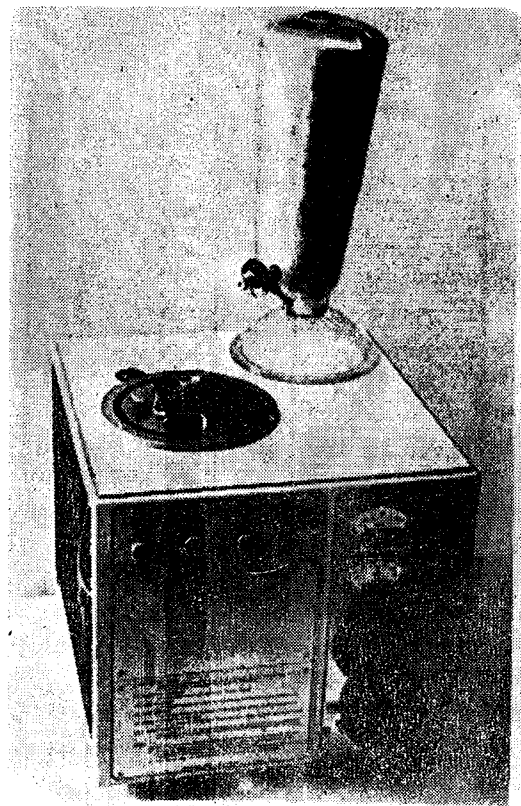


Fig. 2. — Congelator cu sistem de liofilizare.

Fixarea cu alcool sau acetonă se poate face la temperaturi scăzute sub punctul eutectic. În aceste condiții, moleculele de apă sînt înlocuite prin difuziune cu moleculele de acetonă sau de alcool.

Tehnica înghețării cu zăpadă carbonică și prelucrarea la criotom au ajuns la o tehnică comună, care cu toate neajunsurile înghețării lente, pînă la 3 minute, aduce servicii bune. Unii consideră congelarea cu zăpadă carbonică ca o greșeală metodologică, deoarece procesul este prea lent.

**3) Țesutul fixat chimic.** Mai mult decît în histologie, se urmăresc două țeluri:

1) Un optim de menținere a structurii;

2) Păstrarea *in situ* a substanțelor urmărite, deci fixatorul să nu le extragă sau să le hidrolizeze.

Astfel, se știe din practica histologică, că pentru a nu hidroliza sau polimeriza ADN sau ARN, este preferabil fixatorul Carnoy; pentru lipide se întrebuintează formolul, pentru fosfolipide formolul calcic și pentru proteine fixatori care nu rup grupările  $-\text{SH}$  sau  $-\text{SS}-$ , deci nu afectează structura lor primară, secundară etc.

Deci,  $\text{OsO}_4$ , care e oxidant, sau  $\text{HgCl}_2$ , care reacționează cu proteinele, vor fi excluse și se va întrebuinta etanolul + acidul tricloracetic. Compuși anorganici nelegați de structuri macromoleculare se fixează prin coagularea rapidă a întregului țesut, sau prin reactivi specifici:  $\text{Cl}^-$  se evidențiază topochimic cu  $\text{Ag}^+$  ca  $\text{AgCl}$ ;  $\text{Na}^+$  cu acid antimonie,  $\text{Fe}$  cu  $\text{H}_2\text{S}$  ca  $\text{FeS}$ ,  $\text{SO}_4^{--}$  cu  $\text{BaCl}_2$  ca  $\text{BaSO}_4$  etc. Aici, au loc pierderi inevitabile prin dizolvare și artefacte prin formarea și creșterea germenilor chimici. Fixarea glicogenului se bazează pe precipitarea ireversibilă a proteinelor înconjurătoare.

Temperatura de fixare are o importanță mare asupra intensității reacțiilor, vitezei de difuziune, cantității substanțelor care intră în reacție etc.

Reacțiile histochimice ale fixării sînt supuse legii lui Van't Hoff. La o ridicare a temperaturii cu  $10^{\circ}\text{C}$ , viteza de reacție crește de 2—4 ori. Tot așa și fenomenele de autoliză. Se recomandă fixarea la  $0^{\circ}\text{C}$ , la o grosime de 5 mm a piesei. În practică însă, temperatura de  $+4^{\circ}\text{C}$  dă rezultate bune.

La fixare mai intră în joc pH-ul, de obicei acid al fixatorilor, care se combină adesea cu lichide-tampon, și tonicitatea, care se ajustează cu adaosuri de glucoză 0,33 molară.

Pentru evidențierea enzimelor problema fixatorilor este gîngășă și s-a ajuns la întrebuintarea unui număr mare de substanțe noi, cum ar fi glutaraldehida sau hidroxiadipinaldehida, care inactivează puține enzime și le păstrează *in situ*, alături de fixatori mai vechi ca formaldehida în diverse concentrații.

#### TIPURILE DE REACȚII DIN HISTOCIMIE

##### I) Evidențierea substanțelor prin

- a) tipul de reacție microchimic-anorganic, analitic pe secțiune;
- b) formarea pigmentului din substrat;
- c) formarea pigmentului din reactiv;
- d) formarea pigmentului prin legarea reactivului de substratul nemodificat;
- e) formarea pigmentului prin legarea reactivului de substratul modificat;



- f) colorarea prin solvire;
- g) colorarea electrostatică.

II) Evidențierea enzimelor.

III) Autoradiografia.

IV) Spodograma.

Pentru a concretiza această sistematizare, vom da câteva exemple de fiecare grupare și unele caracteristici chimice.

#### a) Tipul de reacție microchimic-anorganic, analitic pe secțiune

De această grupă țin reacțiile pentru evidențierea metalelor, metaloizilor și a grupărilor sulfat neesterificate.

De exemplu evidențierea fierului trivalent cu fericianură de potasiu ca albastru de Prusia. Fierul bivalent se transformă întâi în sulfat feros cu ajutorul sulfurii de amoniu și apoi se procedează ca mai sus.

#### b) Formarea pigmentului din substrat

Se pot evidenția amine biogene, adrenalina, noradrenalina. De exemplu cromafinitatea (pentru adrenalina și noradrenalina) a medulosuprarenalei, de fapt amine biogene oxidate de cromat (și nu cum se credea, o legare a cromatului de țesutul cromafin). Și alte pirocatechine, ca hidroxitiramina, se pot pune în evidență cu această reacție. Reacția nu este numai o oxidare, ci și o polimerizare, care duce la un produs insolubil. Prin prefixare cu glutaraldehidă se ajunge la insolubilizarea aminei primare pe care o are noradrenalina și numai aceasta este apoi prinsă de „reacția cromafină”. Adrenalina, care din cauza grupei secundare de amină pe care o are nu reacționează cu glutaraldehida, este spălată din substrat prin fixare și tratamente.

#### c) Formarea pigmentului din reactiv

Pigmentul de data aceasta se formează din reactiv, sub influența substanțelor din substrat. Ca exemplu este punerea în evidență a proteinelor cu ninhidrina. Aceasta servește pentru evidențierea grupărilor libere  $\alpha$ -amino. Prin fixare și includere în parafină, substanțele cu moleculă mică, cum ar fi aminoacizii și altele, se spală prin solvire, așa că reacția este specifică pentru proteine. Grupări amino libere sînt în fiecare proteină, totuși valoarea informațională cantitativă diferențială între celule și țesuturi nu este neglijabilă.

În reacție cu proteinele, ninhidrina se oxidează și se transformă într-un pigment violet. Acesta are moleculă mică și poate difuza din locul de formare, poate fi absorbit de alte structuri, ceea ce este un neajuns al reacției.

#### d) Formarea pigmentului prin legarea reactivului de substratul nemodificat

Reacții cunoscute, cum ar fi evidențierea mucopolizaharidelor acide, a triptofanului și reacția DDD pentru grupările  $-SH$ . De exemplu, (1) Punerea în evidență a grupărilor  $-SH$  și  $-SS-$  cu săruri de metale grele (mercur), pentru care acestea au afinitate;

(2) Reacții de imunohistochimie: reacția specifică cunoscută, de antigen-anticorp, se poate vizualiza. Anticorpul, înainte de reacție se poate cupla cu un complex colorat fluorescent. Dacă în țesut există antigen, anticorpul se fixează pe antigen, rămîne apoi în secțiune, fluorescează și „locurile antigenice” se pot vedea. Această metodă se poate întrebuița și în microscopia electronică prin marcarea cu feritină, o proteină care conține fier și care dă produse de reacție insolubile și dense.

#### e) Formarea pigmentului prin legarea reactivului de substratul modificat

Multe țesuturi nu conțin substanțe cu grupări chimice potrivite pentru a lega un reactiv histochimic. Din grupa aceasta fac parte majoritatea metodelor histochimice. De aceea, se pregătește chimic în prealabil substratul:

- evidențierea  $\alpha$ -cetogrupărilor corticoizilor din suprarenală. Se blochează aldehidele existente cu un amestec de anilină și acid acetic. Apoi, se oxidează cu clorură ferică  $\alpha$ -cetocorticoizii, pînă la cetoaldehide. Acestea, la rîndul lor, pot fi puse ușor în evidență cu reactivul Schiff;
- evidențierea lipidelor nesaturate: grupările lor etilenice se pot oxida în aldehide.

f) Colorarea prin solvire: colorarea grăsimilor prin coloranți liposolubili: Scharlack.

#### g) Colorarea electrostatică

În histochimie au fost introduse bazofilia și metacromazia, executate în condiții rigurose măsurate. Unele țesuturi se colorează în soluții apoase numai cu coloranți cationici sau anionici, în dependență de pH-ul mediului. Pentru a lega electrostatic coloranți bazici, trebuie să existe în țesuturi radicali  $SO_3O^-$ ,  $PO_3HO^-$  și  $COO^-$ . Aceste trei grupări anionice se deosebesc prin proprietățile lor acide date de constantele de disociație. Aceasta este o proprietate importantă, pentru că o legătură electrostatică țesut-colorant este posibilă numai atunci cînd o grupare este disociată, fiindcă numai atunci există o încărcătură electrică. De aici și înțelesul chimic al bazofiliei, făcut la un pH anumit, cînd numai una dintre grupări este disociată. De exemplu, la  $pH = 1,5$  doar grupa sulfat este disociată, grupa carboxil și fosfat sînt nedisociate, iar grupa amino este protoionizată. Practic, se lucrează la  $pH \sim 3$  cînd se colorează grupările fosfat și sulfat. Grupările fosfat sînt importante pentru colorarea ADN și ARN. După tratare cu ribonuclează, bazofilia rămasă arată numai ADN-ul.



În acest capitol mai intră fenomene puțin elucidate, ca forțele van der Waals, colorări adiționale și metacromazia.

## II) Evidențierea enzimelor

Cele mai multe substanțe sînt puse microscopic în evidență, printr-un complex substanță-reactiv. Spre deosebire de aceasta, enzimele nu pot fi puse în evidență în mod substanțial ca proteine specifice, fiindcă se află în cantități prea mici, ci se vizualizează indirect, prin activitatea lor catalitică. Deci, avem enzima în cupă, apoi adăugăm substratul ei specific care este reactivul și obținem produsul de reacție.

Începuturile histoenzimologiei sînt recente. Încep cu lucrările lui Takamatsu (1938) și Gomori (1939).

Din cele aproximativ 900 de enzime cunoscute, azi circa 100 pot fi detectate histochimic.

Enzima pe care o urmărim trebuie să-și păstreze activitatea, pe cît se poate în întregime, în pofida tehnicii histologice de fixare, dacă este cazul, tăiere și întindere pe lamă. Producții de reacție trebuie să rămînă la locul lor de apariție, fără să difuzeze. Ei trebuie să fie astfel constituiți, ca să poată fi vizualizați nemijlocit sau transformați pe loc într-un produs colorat. Activitatea unei enzime este dată de numărul de molecule de substrat catalizate pe minut. Acesta variază între 55 la glucosidehidrogenază și  $2,5 \cdot 10^6$  la maltază.

Incubarea este o operație importantă, specifică pentru histoenzimologie. Motivul este îmbogățirea în produși de reacție enzimatică din celulă; pH-ul trebuie să fie optim pentru enzima dată. Afară de substrat, se mai adaugă adesea un reactiv care să se combine cu produsele procesului enzimatic. Este preferabil ca totul să se petreacă la temperatura fiziologică, să nu întrecă 20—60 minute, din motive de difuziune și translocatie. Produsul de reacție este bine să fie insolubil și germenii mari (particulele mari și mai rare se văd mai bine decît cele mici și dese). Cristalele nu sînt potrivite, fiindcă nu se pot integra bine peste structurile histologice. Cupa cu produși de reacție se poate uneori fixa și chiar supracolora.

Specificitatea metodei pentru enzima cercetată trebuie controlată prin: (1) incubare fără substrat specific; (2) tratarea unor secțiuni martori cu inhibitori specifici și (3) inactivarea întregii activități enzimatică prin căldură sau săruri de metale grele.

Cantitatea produsului de reacție crește liniar în timp și depinde de obicei de cantitățile de enzimă și substrat, cît și de raportul cantitativ dintre ele. Deoarece enzimele catalizează reacții intermediare și produsul rezultat devine un substrat pentru o enzimă următoare, mai trebuie dovedit că produsul obținut s-a format în decursul incubăției aplicate.

### Metode:

(1) evidențierea produsului, de exemplu punerea în evidență a fosforilazei prin neoformarea de glicogen;

(2) metode cu săruri metalice sau de precipitare. Se oferă enzimei un substrat natural sau artificial, care în urma acțiunii enzimatică dă un produs insolubil, care se poate transforma imediat în pigment. De exemplu fosfatazele și alte hidrolaze. La desfacerea esterilor, se pun în libertate acizi. Ioni metalici potriviți pot forma cu aceștia săruri insolubile, care

precipită la locul formării. Aceste săruri, adesea de culoare albă, se pot transforma în sulfuri colorate.

(3) metode coloristice. Se întrebuintează substraturi artificiale asemănătoare cu cele naturale, dar care conțin naftol. Hidroliza enzimatică pune în libertate naftolul și printr-o reacție potrivită se transformă într-un compus de diazoniu, colorat și insolubil. În mediu alcalin, aceste reacții se petrec bine. La întrebuintarea sărurilor de diazoniu, trebuie să avem în vedere că există diazotați roșii și tetraazotați roșii sau albaștri. Culoarea albastră apare cînd ambele grupe azo reacționează cu alfa-naftolul. Culoarea azo sînt însă liposolubile și difuzează ușor în lipidele tisulare. De exemplu evidențierea esterazelor nespecifice și a beta-glucuronidazei cu Ehtblausalz.

Metodele coloristice cu esteri indoxilici ca substrat, care în timpul hidrolizei enzimatică pun în libertate indoxil, se caracterizează prin albastru indigo, care provine din oxigenul solvit din mediul de incubatie și indoxilul liber. pH-ul trebuie să fie alcalin și să fie prezente substanțe oxidante, ceea ce îngreșește posibilitățile metodei. De exemplu esteraza nespecifică de la nivelul lizozomilor.

(4) Metode de oxidoreducere. Enzimele care catalizează aceste reacții se revelează prin utilizarea unor substraturi al căror produs de reacție este insolubil și colorat, deci imediat decelabil. De exemplu, sărurile de tetrazoliu dau coloranți din grupa formazanilor, amestecul NADI dă naștere la un colorant din grupa indofenolilor etc.

### Metode de detectare:

a) metode indirecte, care sînt utilizate în special la detectarea dehidrogenazelor. Transferul se poate face fie direct, în absența coenzimelor, fie indirect, după o trecere pe o coenzimă. De exemplu succinat dehidrogenază, lactat dehidrogenază.

## III) Autoradiografia

Se bazează pe incorporarea unei substanțe radioactive în țesutul viu. La fixare și secționare ne apare procesul metabolic pe care substanța radioactivă l-a putut marca între momentul aplicării și fixare. Dacă i se dă unui animal  $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ , vom găsi mai tîrziu  $\text{S}^{35}$  în heparina mastocitelor, dar nu ne indică exact unde se găsește substanța radioactivă. O cercetare histochimică ulterioară poate completa acest deziderat.

## IV) Spodograma

Se întrebuintează la țesuturile animale, pentru punerea în evidență sau chiar evaluarea cantitativă a clorurilor, fosfaților și carbonaților. Hemoglobina singelui dă singura substanță colorată, oxidul de fier. Incinerarea se face treptat, pînă la  $500^\circ$ , într-un cuptor electric.

## HISTOCHEMIA CANTITATIVĂ

Valoarea informațională și specificitatea, cu care punem în evidență diferitele funcțiuni chimice care ne interesează în țesutul studiat, au nevoie și de evaluări pe cît se poate de obiective. Reacția histochimică poate



fi pozitivă sau negativă. Adesea însă e mai puternică în preparatul A și mai slabă în B. În acest caz, ne ajută citofotometrul, cu care se poate măsura densitatea optică a pigmentului. Cu lame și lamele identice, cu secțiuni de aceeași grosime și cu medii aritmetice a multor măsurători, se poate spune și procentual cu cât mai puternică este reacția în A față de B.

Și aici însă intervin anumite neajunsuri. Reacțiile nu sînt date de substanța căutată, ci de un complex de reactivi, care pot fi mai compacți sau mai dispersați. Dacă germeii sînt sub  $0,3 \mu\text{m}$ , nu mai sînt vizibili la microscopul optic chiar dacă sînt denși. Pentru ca un pigment să fie vizibil în celulă, trebuie să aibă dimensiuni ceva mai mari, iar cantitativ să fie de  $10^{-12}$ — $10^{-11}$  g, ceea ce corespunde unei concentrații de 0,1—1% în celulă.

Pentru anumite grupuri de substanțe și reacții există metode de apreciere gravimetrică a structurilor celulare, cu raze X foarte slabe, sau determinări ale masei și concentrației substanțelor pe lamă, prin interferometrie microscopică.

#### POSSIBILITĂȚILE ȘI LIMITELE TOPOCHIMIEI

Din prezentarea faptelor reiese că sînt domenii în care histochimia are asigurat succesul „apriori”, iar altele în care este handicapată și nu poate da satisfacție. În cazul din urmă, se numără determinarea histochimică *in situ* a unor substanțe aflate în stare dizolvată în mediu celular și nelegate de structurile celulare. Este situația în care se găsesc unii ioni, dar și alte substanțe cu moleculă mică: sulfați, fosfați solubili, cloruri, glucoză, uree. Ele pot fi evidențiate cu reactivi chimici potriviți, dar fiind difuzibili, nu există certitudinea localizării histologice. Cînd substanțele se află în soluție coloidală (glicogen, de exemplu), fixarea lor se poate face într-un mod satisfăcător. Dacă substanța este solubilă, dar legată de vreun element structural al celulei, sau cînd ea există în stare figurată, condițiile morfologice ale analizei histochimice sînt respectate și evidențierea substanței depinde numai de reacțiile chimice potrivite.

Veritabilul domeniu de succes al histochimiei *in situ* este studiul elementelor macromoleculare ale țesutului.

Metoda chimică este extracția analitică, metoda histochimică este sintetică, caută să păstreze intact scheletul macromolecular pe care îl cercetează. Lison folosește în acest sens un exemplu foarte plastic. Un chimist, dacă i se va da să studieze compoziția unui palat, îl va desface bucată cu bucată în părțile componente: pietre, birne, cărămizi etc. Un histochimist se va mărgini să se plimbe prin diferitele încăperi ale palatului, fără să-l distrugă și va descrie ceea ce vede în structura integră. Histochimia *in situ*, fiind o metodă sintetică, care îmbină metodele determinării din punct de vedere chimic cu raportarea ei la structură morfologică nealterată sau cât mai puțin alterată, cuprinzînd armonios și adecvat metode și principii din cele două discipline genitoare, este un hibrid viguros, ce poate aduce noi contribuții la lămurirea unor aspecte funcționale ale structurilor biologice.

(Avizat de prof. I. Diculescu.)

#### BIBLIOGRAFIE

1. \* \* \* 1970, 1971, *Acta Histochemica*, V.E.B. Fischer, Jena.
2. ARNOLD M., 1968, *Histochemie*, Springer, Berlin.
3. DANIELLI J. F., 1958, *General Cytochemical Methods*, Acad. Press. Inc. New York.
4. LISON L., 1960, *Histochimie et Cytochimie animales*, Gauthier—Villars, Paris.
5. PEARSE A. G. E., 1961, *Histochemistry*, 2nd Ed. J. and A. Churchill Ltd. London.
6. ROMEIS B., 1968, *Microscopische Technik*, 16 Aufl., R. Oldenbourg, Wien, München.
7. SPANNHOF L., 1967, *Einführung in die Praxis der Histochemie*, 2 Aufl. V.E.B. Fischer, Jena.
8. WIED L. G., 1966, *Introduction to Quantitative Histochemistry*, Acad. Press. New York.

Centrul de cercetări biologice Cluj,  
Str. Republicii nr. 48

Primit în redacție la 23 ianuarie 1973.



STUDIUL ELECTROFORETIC AL UNOR ENZIME  
ÎN CURSUL PRIMELOR STADII DE DEZVOLTARE  
LA EMBRIONII HAPLOIZI ȘI DIPLOIZI DE  
*RANA RIDIBUNDA*

DE

DRAGOȘ SCRIPCARIU și RADU MEȘTER

From the electrophoretical analysis of enzymes G-6-PDH, 6-P-DH, LDH, non-specific carboxyl esterase and beta-glucuronidase during the embryonic development in frogs, interesting differences appear between the various developmental stages. The synthesis process of the different enzymes is varying in haploids as compared to diploids. These differences are concerned with the succession of the studied glycolytic enzymes appearance, as well as with their activity (which corresponds to the color-intensity of the stripes). A biochemical difference between haploids and diploids parallel to the morphogenetical movement and to the cellular differentiation is noticed.

Relația nucleu-citoplasmă în procesul morfogenezei și diferențierii celulare și mai ales studiul dezvoltării embrionare cu grade diferite de ploidie au constituit obiectul a numeroase cercetări: Frankhauser (19), Humphrey (27), (28), Kawamura (34), (35), Samada (42), Gurdon (33), Beçak (2), (3), (4), (5), (6).

Studiul dezvoltării embrionilor amfibienilor, care au în garnitura lor un set haploid de cromozomi a fost început de Hestwig (25) și Hörstadius (26). Punerea la punct de către Porter (41) a unei tehnici relativ simple de producere a embrionilor haploizi a facilitat studiul sindromului de haploidie sub diferite aspecte de către numeroși cercetători: Frankhauser (19), von Ubbish (45), (46), Moore (37), (38) Subtelny (43). Embrionii haploizi au aparent o dezvoltare normală pînă în stadiul de gastrulă, ca să prezinte în cursul etapelor ulterioare de dezvoltare anomalii ce caracterizează sindromul de haploidie.



Cercetări anterioare au încercat să explice aceste anomalii pe baze genetice. Astfel, s-a sugerat că prezența unor gene letale recesive, care acționează la haploizi Subtelny (43), Brachet (7), Briggs (9), explică lipsa inducerii unei plăci neurale normale datorită sintezei reduse de ac nucleici, iar Moore și colab. (38) afirmă că o parte a sindromului haploidiei s-ar datora unei creșteri a sensibilității la inhibitori a grupării SH a unor enzime. De asemenea, Hamilton (23), Fox și Hamilton (20), (21), studiind structura microscopico-optică și electronică a unor organe printre care și pronefrosul, au observat deosebiri citologice infrastructurale la haploizi față de diploizi, iar Gallien (30), (31) (32) pune în parabolă embrioni haploizi cu diploizi de *Pleurodeles*, constatănd că deși datorită paraboliei cu diploidul, embrionul haploid dezvoltă depășind metamorfoza, el rămâne cu toate carențele hipomorfoze ce le implică haploidia.

Acste date pledează pentru faptul că sindromul haploidiei are în bază genetică, existența în nucleu a unui set haploid de cromozomi având consecințe morfologice și funcționale profunde.

Aspectul modificărilor metabolice și mai ales enzimatică în cursul dezvoltării embrionare timpurii a embrionilor haploizi și diploizi este mai puțin cunoscut. Apariția enzimelor în cursul embriogenezei, prezența lor sub forme moleculare multiple, distribuția și fluctuația activității lor reprezintă indicatori sensibili ai dinamicii morfofuncționale în procesul diferențierii celulare.

Lucrarea de față are ca scop studiul apariției unor enzime în cursul dezvoltării embrionare timpurii la embrionii diploizi și haploizi ginogeni de *Rana ridibunda*. Au fost luați în studiu embrioni din stadiile de blastulă, gastrulă și neurulă.

#### MATERIAL ȘI TEHNICĂ

Experiențele au fost efectuate pe broaște din specia *Rana ridibunda* obținute din lacurile din jurul Bucureștiului. În vederea ovulației a fost administrată gonadotropină hipofizară 200 U.I. pe individ, iar pentru stimularea spermatogenezei masculii au fost injectați cu 100 U.I. de gonadotropină. Rezultate similare au fost obținute și după injectarea de tritural de hipofiză de broască și prolan (firma Bayer).

După ovulație, ouăle au fost recoltate prin mulgere și fecundate cu o suspensie de spermă în soluție integrală Niu-Twitty (40). Pentru obținerea de embrioni haploizi ginogeni suspensia de spermă a fost iradiată cu raze U.V. provenită de la o sursă de 100 W. Fecundarea în ambele cazuri s-a făcut concomitent, după care ouăle au fost lăsate spre dezvoltare în apă la temperatura camerei (20–21°C). Embrionii au fost sortați în stadiile de blastulă, gastrulă (cu buzele blastoporelui complet formate) și neurulă (cu tubul neural închis). Formele embrionare au fost triturate într-un omogenizator Potter, în apă distilată (1 ml la 20 forme embrionare).

Extracția proteinelor a fost efectuată timp de o oră la temperatura de 0–4°C. Omogenatul tisular a fost centrifugat la 6 000 ture/min timp de 30 minute. Supernatantul obținut a fost utilizat pentru determinările experimentale. Analiza activității enzimatică s-a efectuat electroforetic pe gel de poliacrilamidă, sistemul disc-electroforeză (18). Cuvele conțineau soluție tampon de tris-glicină 0,1 M, pH = 8,6, în timp ce gelurile conțineau soluție tampon de tris-HCl 0,1 M, pH = 8,6. Electroforeza s-a efectuat la o intensitate de 3 mA/tub, timp de 2 ore și 30 minute. În scopul evidențierii activității enzimatică, gelurile scoase din tuburi,

fost spălate cu soluții tampon corespunzătoare mediului de incubat, după care au fost incubate în substratul adecvat pentru fiecare enzimă. Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza s-a evidențiat după Thulline și colab. (44), 6-fosfo-gluconic dehidrogenaza, după același procedeu (substrat 6-fosfo-gluconat de sodiu) lactat dehidrogenaza după Lush (36), esterase nespecifică după Meizel și colab. (39) și beta-glucuronidaza după Burstone (16). Numerarea benzilor de izoenzime s-a făcut de la anod către catod, invers sensului migrării, după Webb (47).

#### REZULTATE

Glucoso-6-fosfat dehidrogenaza (fig. 1). Din omogenatul de blastulă, se evidențiază două benzi cu activitate intensă și migrare lentă situate în partea catodică a gelului. Aceste benzi se mențin ulterior cu mici variații la toate stadiile embrionare diploide și haploide. Din extractul de gastrulă haploide se evidențiază a treia bandă cu activitate slabă, dar cu o migrare mai rapidă. Banda corespunzătoare primei benzi de la blas-

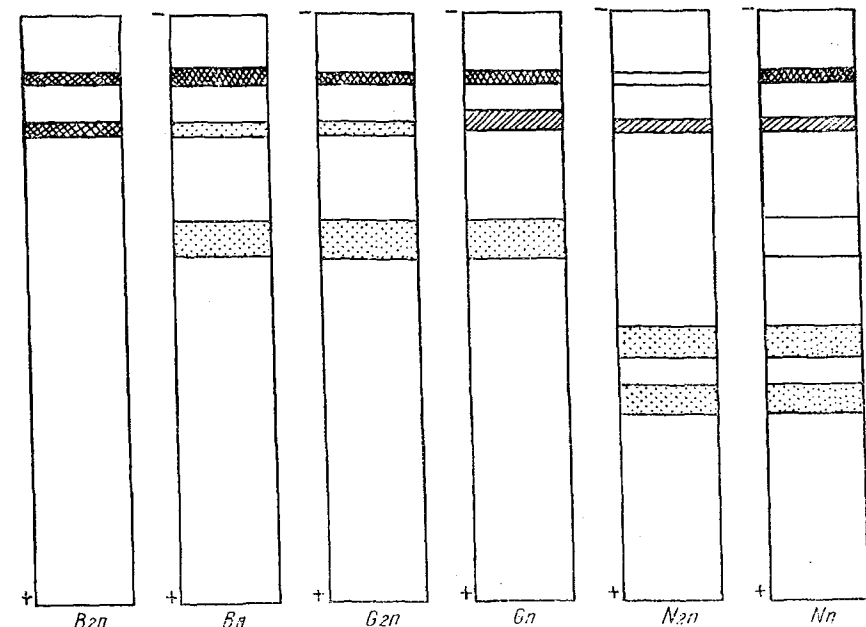


Fig. 1 — Spectrul electroforetic al glucoso-6-fosfat dehidrogenazei în cursul primelor stadii de dezvoltare la embrionii haploizi (n) și diploizi (2n) de *Rana ridibunda*.

B - blastulă; G - gastrulă; N - neurulă;

foarte intens;  
intens;  
mediu;  
slab;  
foarte slab.



tulă apare mai slabă ca activitate. În stadiul de gastrulă, din extractele enzimatică a benzii mijlocii menținându-se scăzută. Benzile frontale ambelor tipuri de embrioni se izolează trei benzi de activitate enzimatică, atât la haploid, cât și la diploid au o mobilitate electroforetică mai mare. dintre care prima bandă prezintă o activitate enzimatică mai slabă față de cea din extractul de blastulă haploidă.

Zimograma extractelor de neurulă prezintă două benzi suplimentare de migrare, dar cu activitate enzimatică intensă. În stadiul de neurulă, la forma diploidă apare o fracțiune suplimentară cu migrare lentă haploizi și diploizi. Banda corespunzătoare benzilor frontale de la gastrulă activitate foarte slabă. La forma haploidă banda a treia, caracteristică stadiului de neurulă este foarte intensă ca activitate, iar banda a doua subîmparte în 2 subfracțiuni, una frontală, corespunzătoare benzii de neurulă 2n, cu activitate medie, și una mai lată ca migrare cu intensitate foarte mare.

6-fosfo-gluconic dehidrogenaza (fig. 2) prezintă o zimogramă asemănătoare în stadiile de blastulă și gastrulă atât la diploid, cât și la haploid

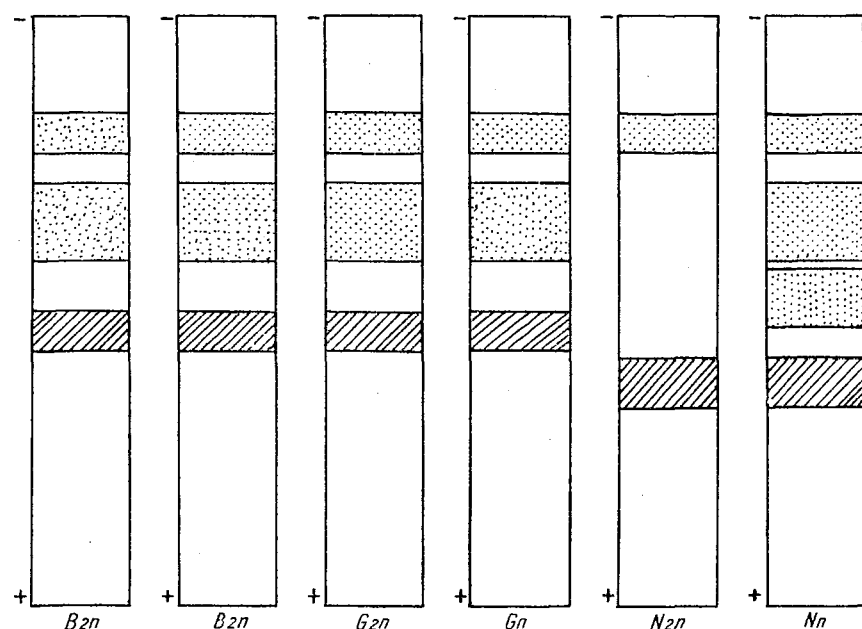


Fig. 2 — Spectrul electroforetic al 6-fosfo-gluconat dehidrogenazei la embrionii haploizi (n) și diploizi (2n) de *Rana ridibunda*.

B — blastulă; G — gastrulă; N — neurulă;

foarte intens;  
intens;  
mediu;  
slab;  
foarte slab.

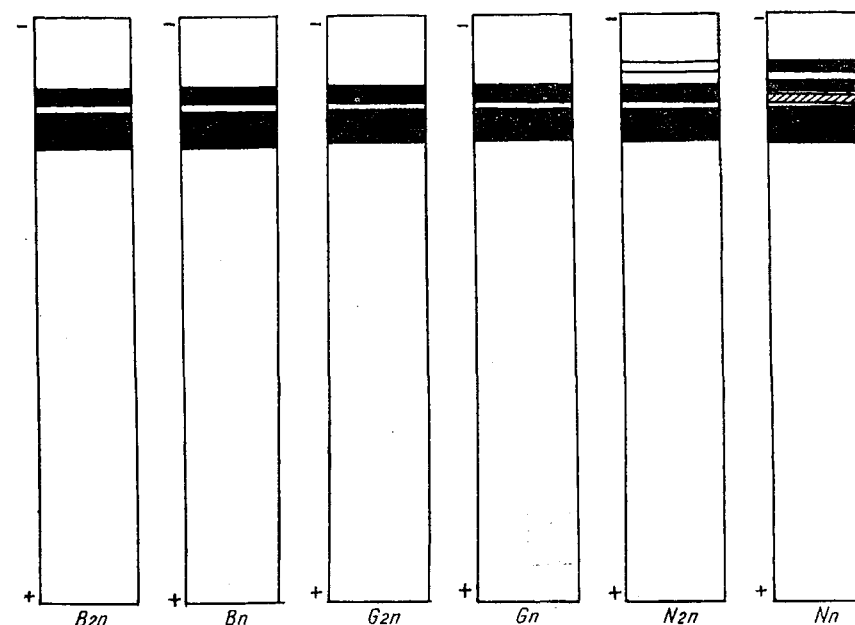


Fig. 3 — Spectrul electroforetic al lactat dehidrogenazei în cursul primelor stadii de dezvoltare la embrionii haploizi (n) și diploizi (2n) de *Rana ridibunda*.

B — blastulă; G — gastrulă; N — neurulă;

foarte intens;  
intens;  
mediu;  
slab;  
foarte slab.

Se obțin trei fracțiuni izoenzimice situate în treimea catodică. Carboxil-esteraza nespecifică (fig. 4) apare ca o singură bandă cu activitate enzimatică foarte slabă numai în cele 3 stadii ale formei haploide. La formele diploide gelurile nu prezintă benzi de activitate specifică. La formele diploide gelurile nu prezintă benzi de activitate specifică. Stadiul de neurulă se deosebește net de celelalte stadii prin aspectul zimogramelor de stadiile precedente. În zimograma neurulei activitate enzimatică intensă și migrare lentă. Este identică atât pentru haploizi, cât și pentru diploizi în toate stadiile de dezvoltare studiate.



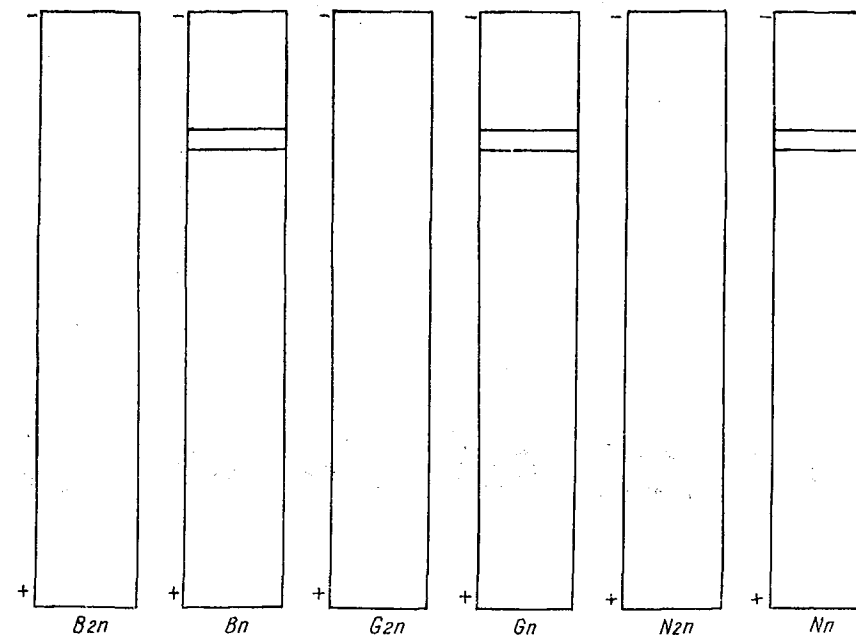


Fig. 4. — Spectrul electroforetic al carboxil esterazei nespecifice la embrionii haploizi (n) și diploizi (2n) de *Rana ridibunda*.

B — blastulă; G — gastrulă; N — neurulă;

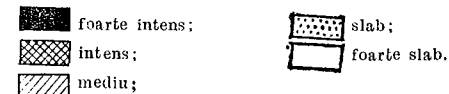
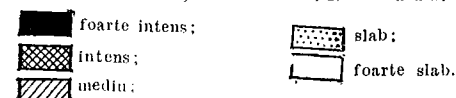


Fig. 5 — Spectrul electroforetic al glucuronidazei la embrionii haploizi (n) și diploizi (2n) de *Rana ridibunda*.

B — blastulă; G — gastrulă; N — neurulă;



## DISCUȚII

Analiza zimogramelor glucozo-6-fosfat-dehidrogenază, 6-fosfo-gluco-6-dehidrogenaza și lactat dehidrogenaza arată că în procesul dezvoltării embrionare a formelor diploide și haploide apar modificări în spectrul enzimatic în funcție de stadiul de dezvoltare, cât și în garnitura cromosomală. Astfel, glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (la forma de blastulă 2n) prezintă două izoenzime, care în stadiul de gastrulă prezintă o bandă suplimentară cu migrare mai rapidă către anod. La forma haploidă această bandă apare din faza de blastulă. La neurulă modificările sînt și mai evidente atît la 2n cît și la n: apar 2 benzi noi cu viteză de migrare mai mare. Banda echivalentă benzii I de la gastrulă dispăre la neurulă 2n scade mult în activitate la formele haploide. Ea apare ca o fracțiune enzimatică caracteristică stadiului de gastrulă, care apare odată cu aceasta și dispăre în stadiul următor de dezvoltare. Situații asemănătoare sînt descrise și de alți autori la amfibieni și arici de mare Chen (17), Beçak (18), Broyles (11), (12), Aebi și colab. (1), Frankhauser (9), Grainger și colab. (29), Haupt (24).

Ultimele două benzi din zimogramele glucozo-6-fosfat dehidrogenazei se mențin la toate stadiile și de asemenea cele 3 izoenzime ale 6-fosfo-gluconat dehidrogenazei, precum și benzile de izoenzime ale lactat dehidrogenazei identice la formele 2n și n din stadiile de blastulă și gastrulă, aparțin enzimelor de tip matern. Aceste enzime se depozitează în ovule, în timpul ovogenezei, sub formă latentă, care ar deveni active în timpul dezvoltării embrionare, sau sub formă de ARNm cu viață lungă, care permite pe seama sa o sinteză de proteine enzime în timpul mai multor stadii embrionare. După unii autori, Wright (48), (49), Brown (3), Brown și colab. (14), (15), stocul matern din unele tipuri de enzime s-ar menține pînă la ecloziune. Un alt fapt care se remarcă la haploid este dispariția cu întârziere față de același stadiu 2n a unor acțiuni enzimatică. Astfel, se remarcă persistența primei benzi a G-6-PDH din faza de gastrulă și a benzii a doua de la 6-PGDH, benzi care dispar din zimogramele neurulelor 2n. Acest lucru poate fi explicat prin metabolismul și ritmul lent de dezvoltare al haploizilor. Porter (41), Rachet (8), Briggs (9), (10), Hamilton (23), Fox și Hamilton (20), (21) remarcă ritmul lent de resorbție a plachetelor viteline și a lipidelor, ceea ce implică un metabolism proteic și un ritm de dezvoltare mai mic ca la formele diploide.

Un alt aspect, care se remarcă de asemenea în zimogramele enzimelor studiate, este apariția la haploizi a unor forme moleculare enzimatică în stadii de dezvoltare mai precoce decît la diploizi, cum este cazul la glucozo-6-fosfat dehidrogenază, lactat dehidrogenază și carboxil esterază. Explicația apariției unei forme moleculare enzimatică la haploizi în stadiile de dezvoltare mai precoce decît la formele diploide poate fi pusă pe seama diferenței dintre garniturile genetice 2n și n. Garniturii cromozomale a nucleului haploid i se opune o cantitate dublă de proteine, ARNs, ARNm, mitocondrii și ribozomi, corespunzătoare dezvoltării normale diploide. Prin urmare, capacitatea nucleului haploid de a sintetiza represori în vederea coordonării proteosintezei citoplasmatică și controlului enzimatic este redusă.

Acest fapt face să pară verosimilă activarea precoce a unor procese de sinteză în oul cu garnitură haploidă, procese ce pot fi greu de controlate de către nucleul haploid cu numai jumătate din genele reglatoare. Această interpretare concordă cu datele obținute de Brown și Cast (15), Brown și Littna (14) și Brown (13), care evidențiază un mare potențial de sinteză proteică, pus în rezervă în timpul genezei și care intră în activitate pe măsura dezvoltării embrionare. asemenea, Beçak (3) analizând activitatea G-6-PDH, 6-P-GDH și LDH în dezvoltare la embrionii diploizi și tetraploizi ai unor amfibieni din America de Sud, observă că la tetraploizi activitatea enzimatică este mai scăzută decât la formele diploide. Autorul explică acest fapt prin existența la tetraploizi a unui număr dublu de gene reglatoare față de embrionii diploizi, ceea ce are ca efect o dublă represie asupra unor gene structurale. Aspectul electroforetic al beta-glucuronidazei este nesemnificativ. Zimograma prezintă, atât pentru embrionii haploizi, cât și pentru cei diploizi același aspect pentru toate stadiile de dezvoltare analizate. Ea pare să fie o enzimă de origine maternă, sintetizată de nucleul diploid în timpul vitelogenezei și care persistă în prima parte a dezvoltării.

#### CONCLUZII

Analiza electroforetică a G-6-PDH, 6-P-GDH, LDH, carboxil esterazei nespecifice și beta-glucuronidazei scoate în evidență deosebirile de zimograme, în funcție de stadiul de dezvoltare și de gradul de ploie.

La formele diploide și haploide în stadiile de blastulă și gastrulă se menține același aspect al zimogramei 6-P-GDH și LDH. La G-6-PDH apare o bandă suplimentară începând din faza de gastrulă. La formele haploide banda caracteristică gastrulei apare încă din faza de blastulă. Începând din stadiul de neurulă se produc modificări importante în zimogramele celor trei dehidrogenaze. La formele haploide dispariția și întârzierea este pusă pe seama metabolismului scăzut și a ritmului lent de digestie a componentelor de rezervă, precum și pe procesul de diferențiere celulară. Apariția precoce la formele haploide în stadiile mai tinere a unor benzi de izoenzime în zimograma G-6-PDH (în stadiul de blastulă) și dedublarea benzii a doua în zimograma LDH (în stadiul de neurulă încorporată) poate fi pusă pe seama disproporției dintre garnitura haploidă a nucleului și factorii de proteosinteză (ARNs, ARN ribozomi, mitocondrii), care sînt puși în rezervă în citoplasma oului către nucleul diploid al ovocitei în timpul ovogenezei. Acestea, s-ar putea explica prin setul pe jumătate de gene reglatoare a nucleului haploid și capacitatea redusă de sinteză a unor represori, ceea ce ar putea conduce la apariția necontrolată în timp a proteosintezei enzimatice la nivel citoplasmei.

(Avizat de prof. E. A. Pora.)

#### ELECTROPHORETICAL STUDY OF SOME ENZYMES DURING THE FIRST DEVELOPMENTAL STAGES IN RANA RIDIBUNDA HAPLOID AND DIPLOID EMBRYONS

#### SUMMARY

The morphological and cytogenetical aspects of the embryonic development of amphibian haploid and diploid embryos constituted the object of numerous studies. The aspects of the metabolic and especially of the enzymatic changes occurring in the first developmental stages of the haploid and diploid embryos is less known. The present work presents the results beating on the appearance of some enzymes activity during the early embryonic development in n and 2n *Rana ridibunda* embryos. Were studied blastula-, gastrula- and neurula-stage embryos. The electrophoretic analysis of G-6-PDH, 6-P-GDH, LDH, nonspecific carboxyl esterase and beta glucuronidase points out the zymogram differences depending upon the stage of development and upon the ploidy degree.

In diploid and haploid forms occurring in blastula- and gastrula stages, the same aspect of 6-P-GDH and LDH zymogram is to be found. With G-6-PDH, an extra stripe appears beginning with the gastrula stage. In the haploid form, the characteristic-of-gastrula stripe appears even in the blastula stage. Beginning with the neurula stage, important modifications occur in the zymograms of the three dehydrogenases. With haploid forms their disappearance is late. This latter is accounted for by the low metabolism and by the slow digestion rhythm of the deposit components, as well as by the tardy cell differentiation process. The early appearance, in young-stage haploid forms, of some isoenzymes in the G-6-PDH zymogram (in the blastula stage) and of stripe-II in LDH zymogram (in the incorporated-neurula stage) may be explained by the disproportion occurring between the nucleic haploid and the proteosynthesis factors (ARNs, ARMm, ribosomes, mitochondria) which are deposited in the egg cytoplasm by the diploid nucleus of the ovocyte during ovogenesis. This phenomenon could be due by the half set of regulating genes of the haploid nucleus, as well as by the reduced synthesis capacity of some repressors, a fact which might result in the uncontrolled appearance in time of enzymatic proteosynthesis within the cytoplasm.

#### BIBLIOGRAFIE

1. AEBI H., RICHTERICH R., VON WARTBURG J. P., 1966, Helgoländer Wiss. Meeresunter. **14**, 343.
2. BEÇAK L. M., BEÇAK W., RABELLA M. N., 1966, Chromosoma, **19**, 188.
3. BEÇAK W., 1969, Genetica, supliment 61, 183.
4. BEÇAK L. M. and BEÇAK W., 1970, Chromosoma, **31**, 377.
5. BEÇAK L. M., a. LANGLADA G. F., 1968, Experientia, **24**, 1162.
6. BEÇAK L. M., BEÇAK W., VIZOTTO D. L., 1970, Experientia, **26**, 545.
7. BRACHET J., 1944, Ann. Soc. Zool. Belg., **75**, 49.
8. — 1954, Arch. Biol., **65**, 1.
9. BRIGGS R., 1946, Growth, **10**, 45.



10. BRIGGS R., 1949, J. exp. Zool., **11**, 255.
11. BROYLES R. H., STRITTMATTER F. C., 1970, Elisha Mitchell Scientif. Soc., **80**, 263.
12. — 1971, Exp. Cell Res., **67**, 471.
13. BROWN D. D., 1967, J. exp. Zool., **157**, 101.
14. BROWN D. D., LITINA E., 1964, J. Mol. Biol., **8**, 669.
15. BROWN D. D., CASTON D. J., 1962, J. Mol. Biol., **5**, 412.
16. BURSTONE M. S., 1962, *Enzyme Histochemistry*, Acad. Press New York.
17. CHEN S. P., 1968, J. exp. Zool., **168**, 337.
18. DAVIS J. B., 1964, Ann. N.Y. Acad. Sci., **121**, 404.
19. FANKHAUSER G., 1945, Quart. Rev. Biol., **20**, 20.
20. FOX H., HAMILTON L., 1964, Experientia, **20**, 289.
21. — 1971, J. Embryol. exp. Morph., **26**, 81.
22. FRANCESCANI P. R., VILLEE A. C., 1968, Comp. Biochem. Physiol., **25**, 717.
23. HAMILTON L., 1963, J. Embryol. exp. Morph., **11**, 267.
24. HAUPT J., GIESBERG H., 1958, Naturwissenschaften, **45**, 268.
25. HERTWIG G., 1913, Arch. Mikr. Anat., **81**, 87.
26. HÖRSTADIUS S., 1936, Mém. Musée. Roy. Nat. Belg., **3**, 801.
27. HUMPHREY R. R., BRIGGS R., 1950, J. exp. Zool., **115**, 399.
28. HUMPHREY R. R., FANKHAUSER G., 1956, J. Morph., **98**, 161.
29. GRAINGER N. R., KUNZ W. Y., 1966, Helgoländer Wiss. Meeresunter., **14**, 335.
30. GALLIEN L., 1957, C.R. Soc. Biol. (Paris), **151**, 1085.
31. — 1960, C.R. Acad. Sci. Paris, **250**, 4038.
32. GALLIEN L., 1967, J. Embryol. exp. Morph., **18**, 401.
33. GURDON J. B., 1959, J. exp. Zool., **141**, 519.
34. KAWAMURA T., MORIWAKI T., 1953, J. Sci. Hirosh. Univ. Ser. B. Div. I, **14**, 117.
35. KAWAMURA T., UTSONOMIA Y., 1957, J. Sci. Hirosh. Univ. Ser. B. Div. I, **17**, 19.
36. LUSH L. E., 1970, Comp. Biochem. Physiol., **32**, 23.
37. MOORE J. A., 1955, Adv. in Genetics, **7**, 139.
38. MOORE J. A., MOORE B. C., 1953, Biol. Bull., **104**, 168.
39. MEIZEL S., BOGGS D., COTHAM J., 1971, J. Histochem. Cytochem., **19**, 226.
40. NIU M. C., TWIFFY V. C., 1953, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., **39**, 985.
41. PORTER K. R., 1939, Biol. Bull., **77**, 233.
42. SAMADA M., 1951, J. Sci. Hirosh. Univ. Ser. B. Div. II, **12**, 35.
43. SUBTELNY S. S., Mc. LOUGHLIN C., 1956, Anat. Rec., **125**, 623.
44. THULLINE H. C., MARROW C. A., WORBY E. D., MATULSKY G. A., 1967, Science, **157**, 4.
45. von UBISH L., 1953, Experientia, **9**, 294.
46. — 1954, Publ. Star. Zool. Napoli, **25**, 246.
47. WEBB E. C., 1964, Experientia, **20**, 592.
48. WRIGHT A. D., MOYER H. F., 1966, J. Exp. Zool., **163**, 215.
49. — 1968, J. Exp. Zool., **167**, 197.

*Facultatea de biologie  
Laboratorul de biologie celulară  
București 35, Splaiul Independenței 91—95*

Primit în redacție la 24 ianuarie 1973.

## EFECTELE L GLUTAMATULUI MONOSODIC LA PUII DE GĂINĂ

DE

INSTANȚA MATEI-VLĂDESCU, GH. APOSTOL, N. BARBU, ELISABETA IONESCU  
și VALERIA RĂDĂCEANU-ARICESCU

The effects of L monosodium glutamate (MSG) upon the weight increase and food consumption in broilers were studied.

Subcutaneously injected in doses from 0.5 to 4 mg/g b.w. in the first days after hatching, MSG proved to be toxic, inducing, according to the size of the dose, a decrease of the growth speed, paralyses or even an increased death rate.

Such toxic effects were not observed in the case of *per os* MSG administration. Chickens treated in this way, with a dose of 2 mg GMS/g b.w. in the 5th day after hatching, were, at the age of 63 days, somewhat heavier than control chickens.

A certain reduction of the quantity of food necessary for the production of a 1 kg biomass increase in chickens, which had received large MSG doses, was noted at the same time.

Efectele fiziologice și farmacologice ale L glutamatului monosodic a fost mult cercetate în ultima vreme, mai ales după ce Olney (3) a înregistrat leziuni ale creierului, obezitate și alte tulburări la șoarecii tratați cu această substanță în primele zile după naștere.

Pornind de la constatarea lui Olney că, la șoarecii astfel tratați, porurile superioare în greutate se obțineau în condițiile unui consum de hrană mai scăzut decât la martori, am întreprins experiențe referitoare la efectele L glutamatului monosodic (GMS) asupra creșterii în greutate a consumului de hrană la puii de găină (broileri), la care aceste efecte au fost foarte puțin cercetate (1), (6).

Rezultatele obținute fac obiectul prezentei lucrări.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Experiențele au fost efectuate pe 30 pui (broileri) de 28 zile și pe 105 pui de o zi ambele sexe, proveniți de la Combinatul avicol Crevedia. Puii, aduși la laborator în prima după ecloziune, au fost crescuți până la vârsta de trei săptămâni într-o crescătoare de construcție simplă, cu un compartiment încălzit (28–30°C) și întunecos și unul semiîncălzit (21–23°C) și luminos. După această vîrstă puii, separați pe loturi, au fost trecuți în baterii, câte 2–3 fiecare cușcă. În continuare, pînă la vîrsta de 63 zile, puii au fost ținuți la o temperatură 20–24°C, în condiții de iluminare naturală (seriile de experiență I și II) sau de iluminare continuă (naturală și artificială, seria a III-a de experiențe).

Ca hrană s-au folosit furaje concentrate pentru pui de carne, procurate de la combinat avicole.

Puii au fost vaccinați antipestos.

Urmărirea efectului glutamatului monosodic s-a făcut în trei serii de experiențe, conform schemei prezentate în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Schema generală de experiențe

Nr. crt.	Seria de experiențe	Numărul de indivizi	Vîrsta în zile la începutul tratamentului	Loturile	Doza zilnică de GMS mg/g g.c.	Durata tratamentului în zile	Modul de administrare	Observații
1	Seria I (5.III–8.IV)	30	28	I lot experim. (10 pui) II lot experim. (10 pui) lot martor (10 pui)	0,5 3 ---	4 1 ---	subcutan subcutan ---	1 pui mort 1 cu paraliz trenului pos
2	Seria II (5.III–6.V)	45	2	I lot experim. (15 pui) II lot experim. (15 pui) lot martor (15 pui)	0,5 4 ---	4 2 ---	subcutan subcutan ---	33 % mortalitate
3	Seria III (13.IX–15.XI)	60	5	I lot experim. (15 pui) II lot experim. (15 pui) III lot experim. (15 pui) IV lot martor (15 pui)	0,5 1 2 ---	1 1 1 ---	per os per os per os ---	

S-a utilizat L. glutamat monosodic, chimic pur ( $C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$ ) provenit de la firma Fluka AG (pentru seriile experimentale I și II) sau de la Merck (pentru seria III).

În tot cursul experiențelor (63 de zile), puii tratați ca și cei din loturile martor au fost cîntăriți individual în fiecare zi. De asemenea, s-a măsurat zilnic consumul de hrană pe cușcă

Din datele obținute s-au calculat: sporul în greutate zilnic pentru fiecare individ, sporul mediu zilnic pe individ și evoluția săptămînală a acestuia, sporul mediu săptămînal, consumul mediu de hrană zilnic pe individ și evoluția lui săptămînală, cantitatea de hrană consumată pentru obținerea unui spor de 1 kg biomasă și evoluția săptămînală a acestui parametru. S-a stabilit de asemenea viteza relativă de creștere bisăptămînală, după formula

$$V_r = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100,$$

ca și viteza medie de creștere pe toată perioada experimentală,

$$V_m = \frac{\frac{M_2 - M_1}{M_2 + M_1}}{2}$$

S-au efectuat calculele statistice, stabilindu-se eroarea standard a mediei și s-a calculat probabilitatea (p) prin aplicarea testului „t” a lui Student.

## REZULTATELE OBTINUTE

## 1. Efectele GMS-ului asupra greutății corporale

În graficele din figurile 1, 2 și 3 prezentăm în mod comparativ evoluția greutății corporale, evoluția săptămînală a sporului mediu zilnic pe individ și sporul mediu săptămînal la puii martor și la puii care au primit subcutan sau *per os*, la diferite vîrste, diferite doze de GMS.

Analiza acestor rezultate arată că la puii de 28 de zile, injectarea subcutană zilnică, timp de patru zile, a unor doze mici de GMS (0,5 mg/g g.c., nu a influențat în mod semnificativ evoluția parametrilor cercetați (seria I, lotul I). Greutatea medie la sacrificare, ca și sporurile zilnice sau săptămînale au avut valori foarte apropiate de cele găsite la martor.

O încetinire semnificativă ( $p \geq 0,05$ ) a creșterii în greutate s-a observat însă la puii, care la aceeași vîrstă au fost injectați subcutan cu o doză mare de GMS, 3 mg/g g.c. (seria I, lotul II). Calculîndu-se viteza relativă de creștere s-a constatat că această încetinire are loc mai ales în primele două săptămîni după injectarea substanței (tabelul nr. 2). În plus, unul dintre puii injectați cu această doză a murit, iar altul a prezentat o paralizie a trenului posterior.

Fenomene asemănătoare s-au constatat și atunci cînd glutamatul a fost injectat la puii în vîrstă de două zile. În acest caz, chiar și dozele mici de GMS (0,5 mg/g g.c.), administrate repetat au provocat o scădere a vitezei de creștere în primele zile după injecție (tabelul nr. 2). Astfel, s-a înregistrat o valoare a vitezei relative de creștere de 295% la lotul tratat cu această doză, față de 368% la lotul martor. Injectarea unor doze mari de GMS (2 doze zilnice a 4 mg fiecare) la această vîrstă a provocat o mortalitate crescută (33%) a puilor, în primele 2 zile după adminis-



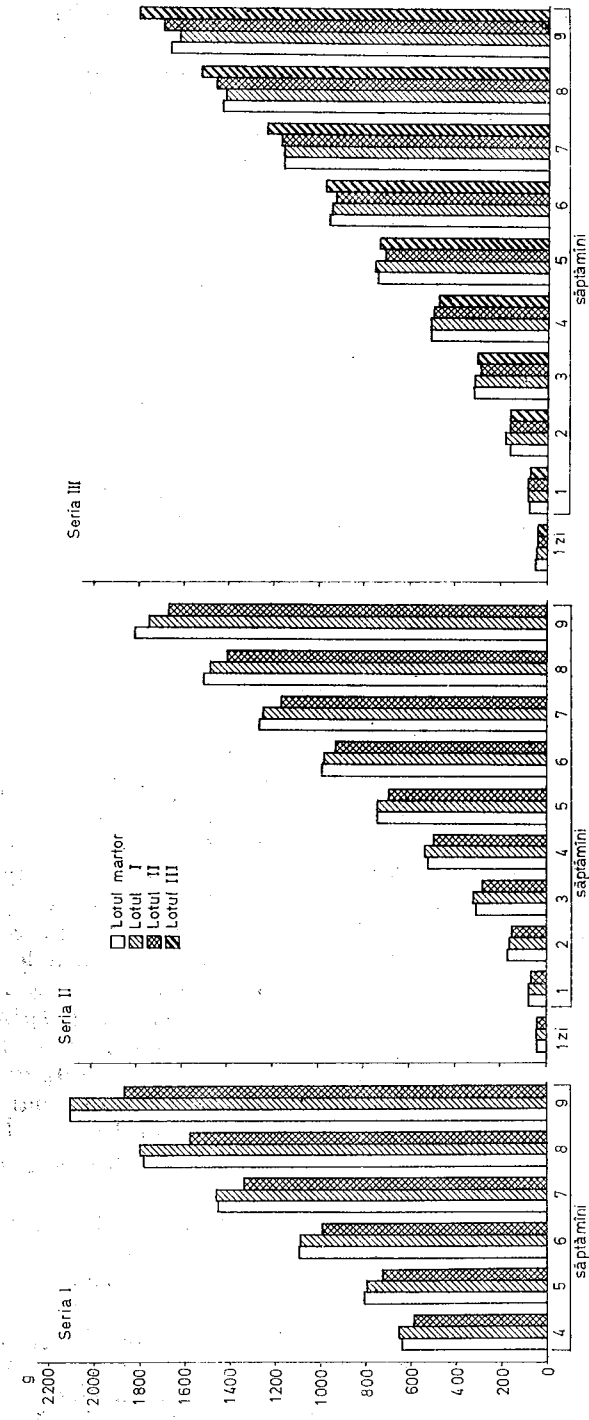


Fig. 1 — Evoluția greutății corporale.

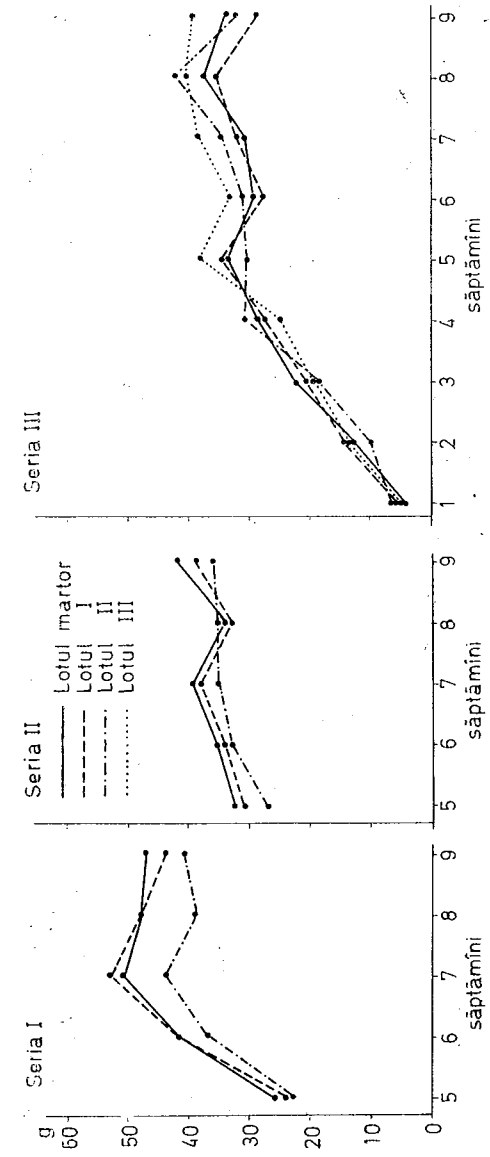


Fig. 2 — Evoluția săptămânală a sporului mediu zilnic pe individ.

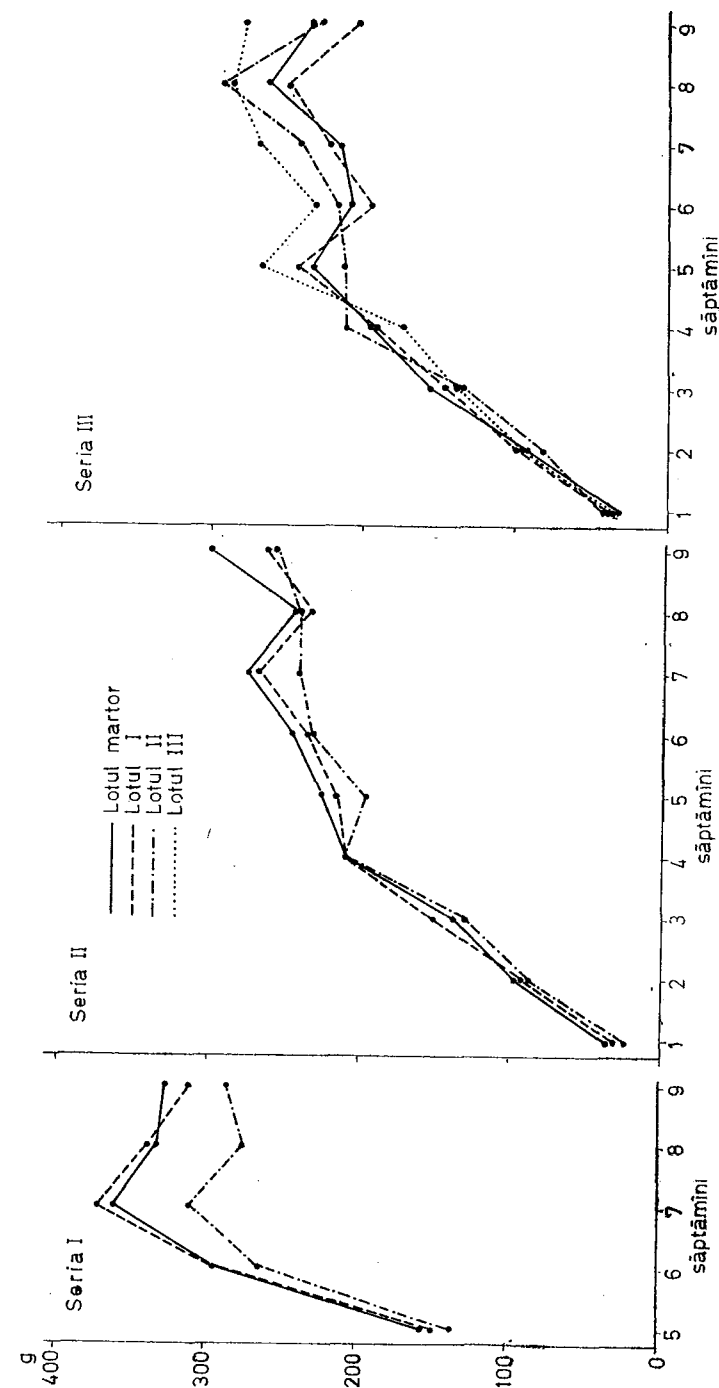


Fig. 3 - Evoluția sporului mediu săptămânal.

Tabelul nr. 2  
Viteza relativă de creștere  
(% bisăptămânal)

Lot ăpt.	SERIA I			SERIA II			SERIA III			
	M	I	II	M	I	II	M	I	II	III
0-2				368	295	266	327	334	318	332
2-4				204	216	218	215	180	193	189
4-6	70	67	40	91	85	87	86	95	83	105
6-8	63	65	59	52	51	52	50	49	57	57
7-9	45	45	43	43	40	43	42	38	38	45

Viteza medie de creștere\*

Lot ăpt.	SERIA I			SERIA II			SERIA III			
	M	I	II	M	I	II	M	I	II	III
% 9 săpt.	201,95	201,95	191,45	192,29	190,59	189,91	191,06	190,44	191,28	191,75

\* Pentru seria I s-a luat, ca greutate medie în prima zi, greutatea de 40 g pentru toate loturile.

trarea substanței și a coborât viteza de creștere din primele 2 săptămâni până la 266%. În următoarele 2 săptămâni pui și-au revenit și viteza lor de creștere a depășit chiar pe cea a puilor martor. În continuare, până la sacrificare, diferențele în viteza de creștere au fost nesemnificative. În această perioadă acești pui au obținut sporuri zilnice și săptămânale egale și uneori mai mari decât cele ale puilor martor (fig. 2, 3, seria II, lotul II). Aceasta a făcut ca greutatea lor la sacrificare (63 de zile), deși mai scăzută, să nu difere semnificativ de cea a puilor martor ( $p > 0,1$ ) (fig. 1, seria II, lotul II).

Administrat per os, în a 5-a zi de la ecloziune, în doze până la 2 mg/g g.c., L glutamatul monosodic nu a mai avut o influență negativă asupra vitezei de creștere în perioada imediat următoare (tabelul nr. 2, seria III). Începând din săptămâna a 4-a și până la sacrificare, la lotul tratat cu 2 mg GMS/g g.c. (lotul III) s-a găsit o viteză de creștere superioară celei de la lotul martor și loturile experimentale I și II. Pui din acest lot au avut o greutate medie superioară la sacrificare față de celelalte loturi (fig. 1, seria III, lotul III). Diferențele față de lotul martor nu au fost totuși statistic semnificative ( $p \geq 0,1$ ).

## 2. Efectele GMS-ului asupra consumului de hrană

Valorile consumului de hrană al puilor din loturile martor și din cele tratate cu GMS sînt redată în graficele din figurile 4 și 5.

În cazul primelor 2 serii experimentale, pui din loturile care au primit doze mari de GMS au avut un consum mediu de hrană pe individ, mai scăzut decât cel al puilor din loturile martor sau al celor din loturile



injectate cu cantități mici de glutamat (fig. 4). Această diferență nu poate să fie determinată numai de greutatea mai mică a puiilor din aceste loturi deoarece, ea a apărut și atunci când s-a comparat consumul de hrană raportat la 1 kg greutate corporală la aceste loturi.

În același timp, puii tratați cu doze mari de GMS au consumat cantitate ceva mai scăzută de hrană pentru producerea unui spor de 1 g biomasă, în medie cu 50 g mai puțin pe kg spor biomasă (fig. 5, seriile I și II, loturile II).

În seria a III-a de experiențe s-a măsurat consumul de hrană toată durata experienței. În primele 4 săptămâni s-a înregistrat un consum total mediu pe pui de: 1 219 g la lotul martor, 1 245 g la lotul I, 1 156 g la lotul II și 1 195 g la lotul III. În următoarele 5 săptămâni consumul de hrană mediu pe individ a fost ușor crescut la puii din loturile experimentale față de consumul de hrană al puiilor martor (fig. 4, seria II).

Cantitatea de hrană consumată pentru obținerea unui spor de 1 g biomasă la puii tratați cu o doză mai mare de GMS, respectiv 2 mg g.c., a fost totuși mai mică decât la puii martor, respectiv 2,552 kg față de 2,691 kg (fig. 5, seria III).

#### DISCUȚIA REZULTATELOR

Rezultatele noastre se aseamănă în mare măsură cu cele obținute de Carew și Foss (1) la broileri masculi.

Injectarea subcutană a unor soluții concentrate de GMS a avut efecte toxice cu atât mai intense, cu cât dozele injectate erau mai mari și puii erau mai tineri. Vârsta pare să prezinte o importanță deosebită ceea ce privește sensibilitatea puiilor la acțiunea toxică a GMS-ului. După cum au arătat Carew și Foss, doza de 5 mg GMS/g g.c. este mortală la puii de 1 zi. În experiențele noastre, puii de 2 zile au suportat 2 doze de 4 mg GMS /g g.c., cu o mortalitate de numai 33%.

Una din cauzele diminuării severității efectelor toxice ale GMS-ului ar putea fi scăderea treptată a permeabilității barierei hematocerebrale pentru glutamat, în primele zile după ecloziune. O astfel de scădere a fost evidențiată de Fikova (2).

Administrat *per os*, în soluții diluate, la puii de 5 zile, GMS-ul, în doze de până la 2 mg/g g.c., nu a avut nici un fel de efect toxic decelabil. Puii tratați în acest mod cu doza de 2 mg GMS/g g.c. au avut chiar greutate medie la vârsta de 63 zile, cu 140 g mai mare decât greutatea medie a puiilor martor. În mod asemănător în experiențele lui Carew și Foss (1), puii tratați cu 1 mg GMS/g g.c. erau ceva mai grei decât martorii la vârsta de 16 săptămâni.

Faptul, că și în experiențele noastre ca și în cele ale lui Carew și Foss aceste diferențe nu au apărut statistic semnificative, nu exclude posibilitatea unui efect favorabil al GMS-ului asupra creșterii în greutate a broilerilor. Un astfel de efect favorabil statistic semnificativ este greu de stabilit în experiențe pe loturi relativ mici de broileri, 10—15 indivizi care, dat fiind caracterul lor hibrid, prezintă o variabilitate individuală crescută a eredității vitezei de creștere și a sporului în greutate. Analiz

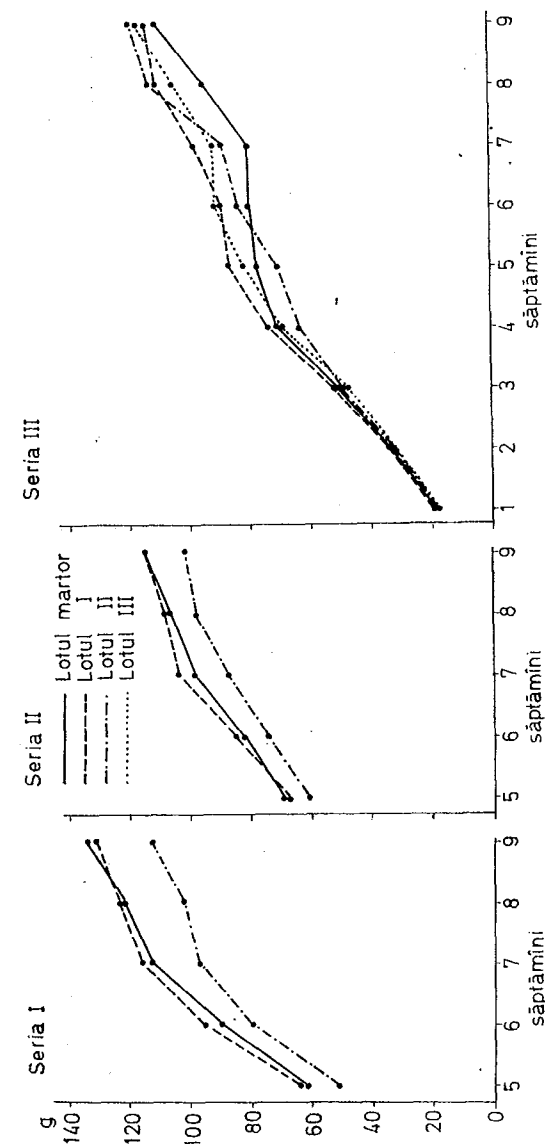


Fig. 4 — Evoluția săptămânală a consumului de hrană mediu zilnic pe individ.

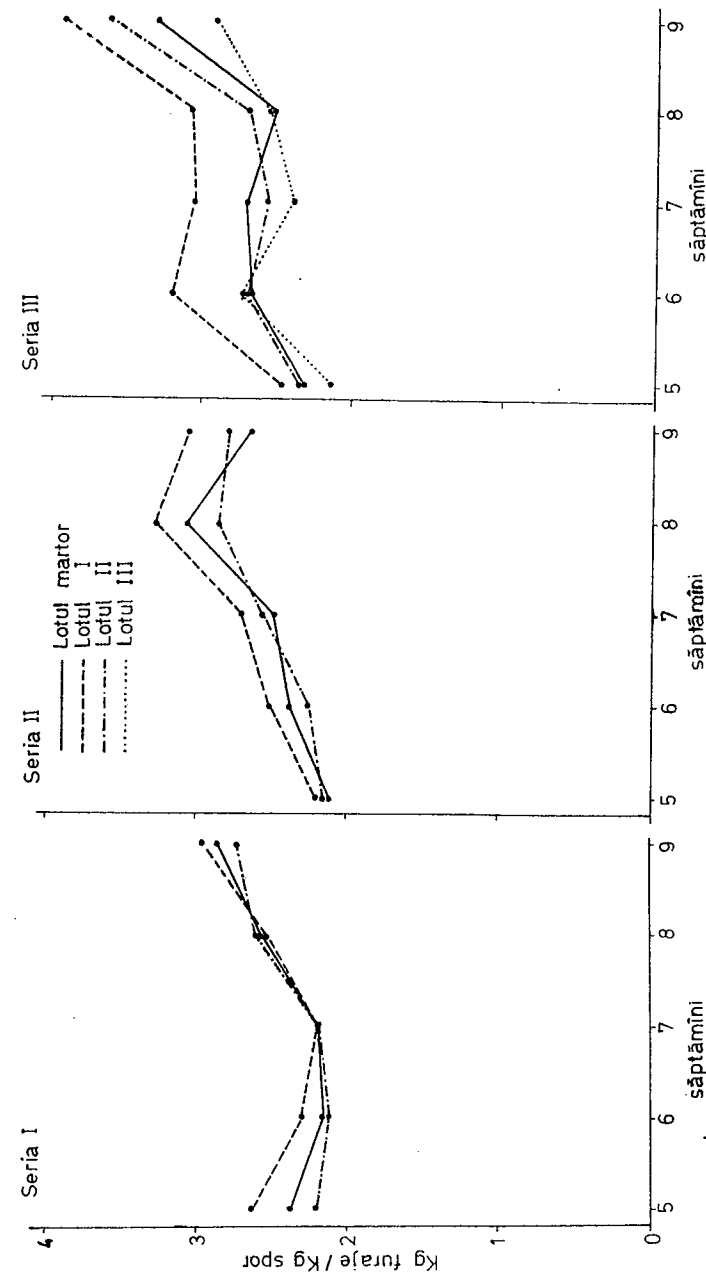


Fig. 5 — Evoluția consumului de hrană necesar pentru a obține 1 kg spor biomasă.

prurilor zilnice individuale în cursul celor 63 de zile, cât a durat experiența, a evidențiat existența unor ritmuri individuale foarte variate ale creșterii în greutate. Edificatoare ar fi numai experiențele pe efective mari de broileri.

Rezultatele noastre au indicat de asemenea o oarecare acțiune toxică a GMS-ului și asupra eficienței utilizării hranei, deoarece puii tratați cu doze mari de glutamat au consumat de regulă o cantitate de hrană mai redusă pentru obținerea unui spor de 1 kg biomasă față de puii martor.

Dezechilibrul metabolic și/sau hormonal care generează tendința de obezitate la animalele tratate în primele zile după naștere cu GMS este socotit ca o urmare a efectului distructiv selectiv al acestei substanțe asupra unor nuclee hipotalamice și în special asupra nucleului arcuat (3), (5). Aceasta deoarece nucleul arcuat se află la originea multor fibre în tractul tubero-infundibular, prin care, cu ajutorul *releasing factors*, sunt mediate influențe regulate ale adenohipofizei (4).

Cercetările lui Snapiar (6) au arătat că sistemul nervos al păsărilor de găină este de asemenea sensibil la tratamentul cu GMS. Ca la mamifere, leziunile induse de GMS în hipotalamus includ nucleii suprașchi.

#### CONCLUZII

1. L glutamatul monosodic injectat subcutan în soluții concentrate la broileri a avut un efect toxic, cu atât mai sever cu cât doza de GMS era mai mare și puii mai tineri. Această toxicitate s-a manifestat prin mortalitate crescută, paralizii sau numai prin scăderea vitezei de creștere în perioada imediat următoare administrării.

2. Administrarea *per os* a unor doze de GMS până la 2mg/g g.c. nu a avut efecte toxice vizibile. La vârsta de 63 zile păsările tratate cu o doză de 2 mg GMS/g g.c. au avut o greutate medie mai mare cu 140 g față de greutatea puiilor martor.

3. Cantitatea de hrană consumată pentru a produce un spor de 1 kg biomasă a fost ceva mai redusă la broileri care au primit doze mari de GMS.

(Avizat de prof. E. A. Pora).

#### THE EFFECTS OF L MONOSODIUM GLUTAMATE IN CHICKENS

#### SUMMARY

Proceeding from Olney's finding that mice treated with L monosodium glutamate (MSG) in the first days after birth evince higher weight increases in conditions of a lower food consumption than controls, the effects of this substance upon weight increase and food consumption in broilers were investigated.



A number of 135 chickens were investigated upon, to which various ages (2, 5 and 28 days), single or repeated doses of MSG, comp between 0,5 and 4 mg/g b.w. were administered subcutaneously or p

The effects of MSG depended upon the doses of the substance ployed, the way of administration and the age of chickens.

Subcutaneously injected in concentrated solution, in doses 0,5 to 4 mg/g b.w., MSG had a toxic effect, all the severer as the was larger and chickens younger. This toxicity was evinced by a hi death-rate, paralyses or only by the decrease of growth speed in period immediately following administration.

„Per os” administration of MSG doses up to 2 mg/g b.w. ha visible toxic effects. At the age of 63 days, the fowls treated in this with a dose of 2 mg MSG/g b.w. had an average weight by 140 g gr as against the weight of control chickens.

The quantity of food consumed for producing a 1 Kg biomas crease was somewhat smaller in chickens which received larger l doses.

#### BIBLIOGRAFIE

1. CAREW L. B., FOSS D. C., Poultry Science, 1971, **50**, 5, 1501—1502.
2. FIFKOVA E., A. VAN HARREVELD, Experimental Neurology, 1970, **28**, 286—298.
3. OLNEY J. W., Science, 1969, **164**, 3880, 719—721.
4. — J. Neuropath. exp. Neurol., 1971, **30**, 1, 75—91.
5. REDDING T. V., SCHALLY A. V., ARIMURA A., WAKABAYASHI J., Neuroendocrinology, **8**, 245—255.
6. SNAPIR N., ROBINSON B., PEREK M., Poultry Science, 1971, **50**, 5, 1511—1514.

Institutul de biologie  
„Traian Săvulescu”  
Secția de fiziologie animală

Primit în redacție la 20 decembrie 1972.

#### INFLUENȚA TIOUREEI ȘI A TIROXINEI ASUPRA METABOLISMULUI ENERGETIC LA DOUĂ SPECII DE PĂSĂRI SĂLBATICE: *COLUMBA LIVIA DOMESTICA* Gm. ȘI *STREPTOPELIA DECAOCTO DECAOCTO* FRIV.

DE

GH. NĂSTĂSESCU și ELENA NIȚESCU

Thiourea and thyroxin administration in two wild birds (pigeon and ring dove) at 25°—27°C and 10°C produce the following modifications of the energy metabolism:

- the unique and repeated doses of thiourea induce a significant decrease of the energy metabolism even of the beginning of the treatment;
- the subcutaneous administered thyroxin in the pigeon and the ring dove determined hypermetabolic effects both at the temperature close to the „thermic neutrality zone”, as well as at the temperatures of 10°C. Its effects were more evident when thyroxin was used in repeated doses in a period of ten days. On the basis of these investigations, we reached the conclusion that the thyroid gland hormone plays an important role in the thermoregulation mechanism, without at the wild birds.

Numeroasele cercetări privind intervenția hormonilor în desfășurarea pr etape ale metabolismului energetic au fost în exclusivitate consacrate miferelor și păsărilor domestice.

La speciile de păsări sălbatice, asemenea studii lipsesc aproape cu avîrșire, sau dacă există, ele au un caracter relativ din cauza condițiilor experimentare cu totul diferite la fiecare cercetător. Din această cauză, ultatele obținute pînă în prezent în unele privințe sînt contradictorii.

Cercetări mai vechi, privind fenomenul de termoreglare la animalele neotermice, au evidențiat faptul că hormonii glandei tiroide ar fi impli- i în stimularea proceselor de termogeneză (7).

În 1960, R. E. Smith (17) demonstrează că la animalele tiroidectomizate și expuse la temperaturi scăzute, procesul de termoliză desfășoară mult mai repede decât la cele normale.

Efecte similare tiroidectomiei, prin administrarea de substanțe antitiroidiene (tiouree și tiouracil) la unele specii de păsări domestice au obținut și M. G. Mc. Cartney și C. S. Shaffner (10) și J. Mellen (13).

Kramer (1915) și Ch. Kayser (8) observă, de asemenea, că tiroida devine hiperplazică la unele homeoterme în anotimpul de iarnă și tot ei sînt aceia care sugerează prezența termogenezei fără tremor la păsări și mamifere.

În prezenta lucrare ne-am propus să expunem rezultatele unor cercetări cu privire la efectele produse de tiouree și tiroxină în mecanismul de termoreglare fără tremor la două specii de păsări sălbatice.

#### MATERIAL ȘI METODĂ

Experiențele s-au efectuat pe un număr de 25 de păsări adulte (15 porumbel și 10 guguștiuc), în greutate medie de  $302,0 \pm 15,7$  g, respectiv,  $171,3 \pm 7,43$  g, împărțite în 5 loturi de câte 5 exemplare.

Înainte de experimentarea propriu-zisă, am stabilit „criteriile fiziologice standarde” de măsurare a metabolismului energetic la păsări. Evaluarea acestuia s-a făcut pe baza măsurării schimburilor respiratorii, cu ajutorul unui interferometru.

Temperatura de experimentare a fost de  $25^{\circ}-27^{\circ}\text{C}$  (temperatura corespunzătoare de neutralitate termică pentru porumbel și guguștiuc) în anotimpul de iarnă și de  $10^{\circ}\text{C}$  pentru tiroxină.

Valorile metabolismului energetic au fost exprimate în kcal/kg/h/greutate corp.

Dozele \* folosite, atât cele de tiouree, cât și cele de tiroxină au fost administrate sub formă de soluție în mod unic și repetat.

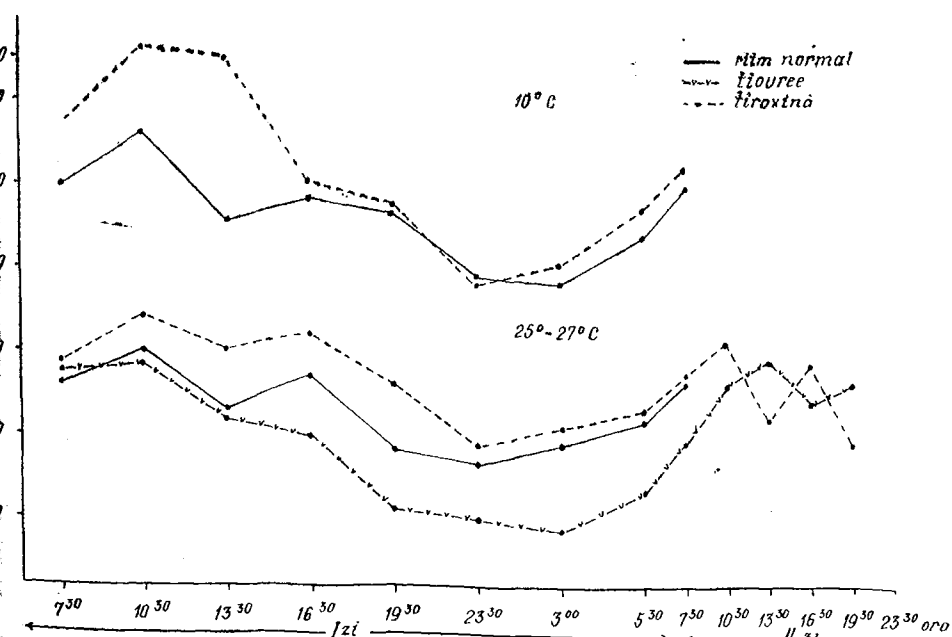
#### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Pentru a aduce o dovadă și mai convingătoare în sprijinul ideii că acest hormon participă activ în adaptarea păsărilor sălbatice la diferite condiții de mediu, ne-am propus mai întâi să administrăm o substanță cu efecte antitiroidiene — tioureea — care prin acțiunea sa reduce semnificativ efectul calorigen al tiroxinei.

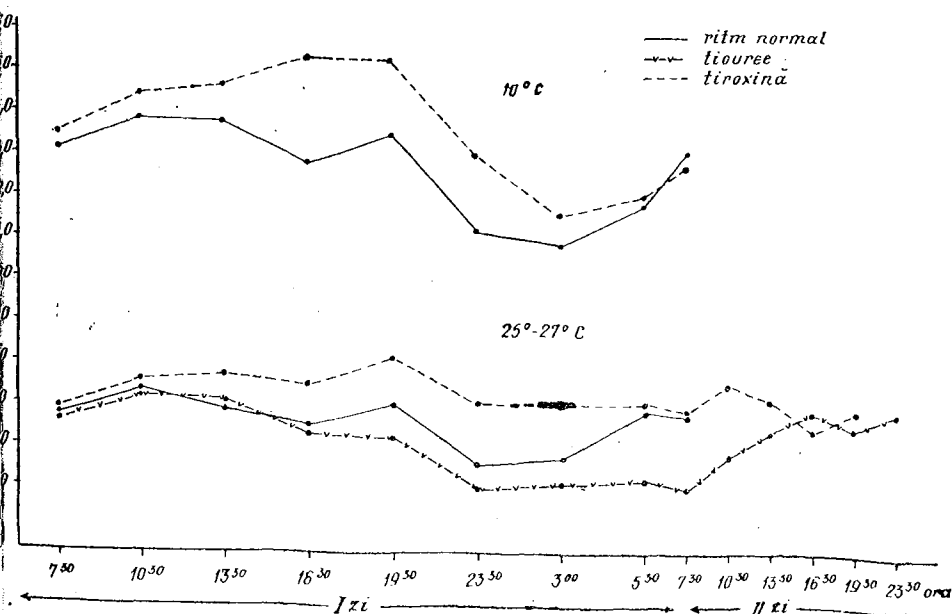
Din analiza rezultatelor obținute de noi a reieșit că tioureea administrată în doze unice și repetate la păsările expuse la o temperatură de  $25^{\circ}-27^{\circ}\text{C}$  a produs o însemnată scădere a metabolismului energetic standard, atât la porumbel, cât și la guguștiuc (fig. 1 și 2).

Minimele metabolice au fost înregistrate la 16 ore de la administrarea tioureei la porumbel (doză unică), iar revenirea la valorile normale s-a făcut după 22 de ore. Exprimată în procente, această scădere a valorii metabolismului energetic a fost de 80,2% față de valoarea bazală.

\* Respectiv doze de 0,4 mg/kg tiouree și 0,5 mg/kg tiroxină au produs efecte maxime, dovedindu-se în același timp netoxice pentru păsări.



— Influența tioureei și tiroxinei asupra metabolismului energetic la porumbel (administrare unică).



— Influența tioureei și tiroxinei asupra metabolismului energetic la guguștiuc (administrare unică).



La guguștiuc, aceeași doză și în aceleași condiții de experimenta minima metabolică a avut loc la 18 ore de la administrare, iar valoarea normală a metabolismului energetic a fost atinsă într-o 30-a oră.

Tioureea la această specie a produs o scădere a metabolismului energetic standard de 74,09%.

Doza de tiouree administrată repetat, timp de 10 zile la cele două specii de păsări, a determinat efecte hipometabolice, dar mai accentuate decât cele unice. În tratamentul de 10 zile, minimul acestor efecte a fost realizat în ziua a VII-a la porumbel (de la  $5,590 \pm 0,243$  la  $4,193 \pm 0,118$  kcal/kg/h) și într-o V-a la guguștiuc (de la  $6,331 \pm 0,449$  la  $5,229 \pm 0,387$  kcal/kg/h).

Durata efectului a fost marcată pînă în ziua a XII-a la porumbel și a XIII-a la guguștiuc (fig. 3).

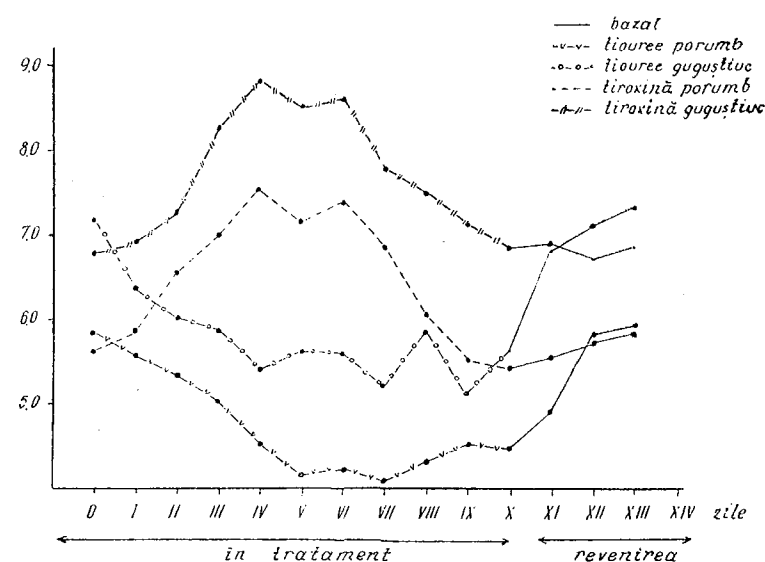


Fig. 3. — Influența tioureei și tiroxinei asupra metabolismului energetic la porumbel și guguștiuc (doze repetate).

Cît privește modul de acțiune al acestei substanțe care a indus o reducere considerabilă a metabolismului energetic la cele două specii de păsări, se presupune că ea ar inhiba fie sinteza tiroxinei în glanda tiroidă, fie transportul activ al iodului spre glandă și depunerea acestuia sub formă de sulfocianuri și nitrați.

În cazul experiențelor noastre, acțiunea tioureei s-a manifestat chiar de la începutul tratamentului, atît în administrarea unică, cît și repetată.

Din acest punct de vedere, rezultatele obținute de noi concordează cu cele ale lui D. B e r g e t o n și C. K r u m - H e l l e r (2) care au cercetat acțiunea 6-benzil-tiouracilului asupra metabolismului bazal al șobolanilor. Ei au pus în evidență faptul că sub acțiunea acestei substanțe și la temperaturi relativ ridicate, se produce o scădere notabilă a metabolismului

La păsări (găini din rasa Leghorn), F. S u l m a n și M. P e r e k au stabilit că administrarea de tiouracil scade valoarea metabolismului. De asemenea, C. R o m i j n (14) a arătat că 6-metil-2-tiouracilul scade metabolismul de repaus la pui de găină în vîrstă de 10 săptămîni.

H. S i n g h și C. S. S h a f f n e r (citați după W. J. M e l l e n și F. W. H i l l (12)), în lucrările lor pe pui de găină, demonstrează același lucru: o scădere a consumului de oxigen după administrarea tiouracilului, și o scădere a acestuia la ingerarea de tireoglobulină.

Datele noastre, conform cărora metabolismul standard la porumbel guguștiuc este practic redus prin administrarea tioureei, nu concordează cu cele obținute de W. J. M e l l e n și F. W. H i l l (12), care au arătat că metabolismul bazal al puilor de găină tratați cu tiouracil era valoric aproape asemănător cu al martorilor. În acest caz, noi credem că lipsa de tiouree a tiouracilului s-ar datora perioadei de inaniție (peste 20 ore) care erau supuși puilor.

Într-un alt experiment, tot J. W. M e l l e n (13), administrînd doze repetate de tiouracil (0,1%), obține o scădere semnificativă a valorii metabolismului la pui de găină care nu aveau o perioadă așa mare de inaniție.

Acțiunea de scurtă durată a efectelor obținute cu tiouree, la cele două specii cercetate de noi, corespund și cu rezultatele lui G. W. P i p e s și C. W. T u r n e r (citați după (13)), care au lucrat tot pe pui de găină.

Cît privește tiroxina, aceasta a produs un efect hipermetabolic maxim în ziua a 6-a de la administrare, la temperatura de 25°—27°C, iar revenirea la valorile normale ale metabolismului s-a făcut după 18 ore (fig. 1). Porul caloric față de valoarea bazală la porumbel a fost de 18,09%.

La loturile expuse la temperatura de 10°C, efectul hipermetabolic al tiroxinei a fost și mai evident decît la temperatura de 25—27°C, iar durata de acțiune a hormonului a fost de numai 8 ore.

Valorile medii ale metabolismului energetic la guguștiuc, la temperatura de 25—27°C și 10°C se înscriu într-o curbă foarte asemănătoare cea obținută la porumbel, numai că efectul hipermetabolic s-a menținut o perioadă mai mare ca la porumbel, 18 și, respectiv, 16 ore (fig. 2).

Doza repetată timp de 10 zile a determinat o creștere semnificativă a metabolismului energetic în ziua a 4-a și a 6-a, atît la porumbel, cît și la guguștiuc (fig. 3).

Efectul indus de acest hormon catabolic s-a menținut și după întreruperea administrării lui, încă 3—4 zile.

Din analiza rezultatelor obținute cu privire la influența hormonului tiroidian — tiroxina — asupra metabolismului energetic la păsările studiate, a reieșit că aceasta a produs efecte hipermetabolice, atît la temperaturi apropiate zonei de neutralitate termică, cît mai ales la temperaturile ridicate. Efectele au fost și mai evidente atunci cînd administrarea hormonului s-a făcut în mod repetitiv, timp de 10 zile.

Primele dovezi care vin să sugereze importanța fiziologică a tiroxinei în producția calorică ridicată, și deci în adaptarea animalelor la temperaturi ridicate, sînt cele ale lui R. E. S m i t h (17), care a observat că la animalele tiroidectomizate și expuse la frig, pierderea de căldură se face mult mai repede decît la cele normale. Aceleași animale operate nu mai pot

supraviețui (la temperaturi scăzute) dacă rezerva de tiroxină a fost epuizată. O nouă administrare de hormon va duce la o creștere a „ratei catabolice” și la prelungirea vieții cu peste 25 de zile.

Dovezile aduse în sprijinul participării acestui hormon la o terogeneză fără tremor sînt numeroase (1), (4), (16) și nu numai de ordin metabolic; însăși tabloul histologic al glandei, greutatea ei, preluarea degajarea de  $I^{131}$  vin să confirme această ipoteză.

În opoziție cu aceste rezultate sînt cele obținute de D. S. Farn (5), la puii de găină și vrăbii, și J. S. Hart (6), pe porumbel, unde activitatea glandei tiroide nu pare a fi modificată în tot cursul anului.

Așa cum rezultă și din cercetările altor autori (H. Selye (11) și ale noastre, păsările spre deosebire de mamifere prezintă unele deosebiri interesante în ceea ce privește răspunsul metabolic la acțiunea hormonului. Astfel, administrarea hormonului tiroidian la cobai și șobolani duce la o creștere a consumului de oxigen pe o durată de 3 zile, iar după administrarea unei singure injecții de tiroxină la om, metabolismul începe să crească după 7 ore și atinge un maxim la 1–2 săptămîni, chiar 1–2 luni (3).

C. J. Sellabarger (15) presupune că acțiunea de scurtă durată a efectului produs de tiroxină la păsări ar fi în legătură cu transformarea rapidă a acestui hormon în triiodotironină.

Cît privește intervenția tiroxinei în metabolismul energetic, aceasta s-ar realiza în două moduri: direct și indirect. Direct, prin stimularea sistemelor enzimactice care participă la reglarea metabolismului. În acest sens, Nieman (cit. după I. F. Dumitru \*) consideră că activitatea biochimică a tiroxinei se face simțită la nivelul proceselor de oxidoreducere, unde hormonul îndeplinește funcția de transportor de hidrogen.

Cel de-al doilea mecanism de acțiune al hormonului la organismul homeoterm s-ar realiza după (9) în mod indirect, — tiroxina sensibilizând țesuturile la acțiunea altui hormon catabolic — adrenalina.

#### CONCLUZII

În condițiile unui tratament cu o doză de 0,4 mg/kg tiouree, metabolismul energetic al păsărilor cercetate a suferit la început o acțiune hipometabolică evidentă, după care a urmat revenirea la valorile normale.

Tiroxina în doză de 0,5 mg/kg a determinat atît la temperatura de 25–27°C, cît și la cea de 10°C, o considerabilă creștere a schimbului respiratorii. Mai evident acest lucru s-a observat la temperatura de 10°C. Efectul maxim a fost atins la opt ore după administrare la porumbel și 18 ore la guguștiuc.

Cu toate că mecanismul de acțiune al tiroxinei nu este încă suficient lămurit, rolul său nu poate fi contestat în realizarea unei prompte și eficiente adaptări a păsărilor sălbatice la condițiile mediului exterior.

(Avizat de prof. E. A. Pora.)

\* I. F. Dumitru, 1970, *Hormonii*, Centrul de multiplicare al Univ. București.

## THE INFLUENCE OF THYUREE AND THYROXINA UPON THE ENERGY METABOLISM AT TWO WILD BIRDS *COLUMBA LIVIA DOMESTICA* Gm. AND *STREPTOPELIA DECACTO FRIV.*

#### SUMMARY

In this paper are presented the principal results concerning the influence of thiourea and thyroxine on the energy metabolism in two wild birds.

The experiments were carried out in 25 adult birds (15 pigeons and 10 ring doves), with a mean weight of  $302.0 \pm 15.7$  and respectively  $71.3 \pm 7.43$  g. The birds were divided into 5 groups, 5 birds each.

After the consolidation of the „standard physiological criteria” the valuation of the standard energy metabolism was carried out by measuring the respiratory using a Zeiss interferometer.

After the administration of the antithyroid stuff (thiourea) and of the thyroid hormone (thyroxine) the existence of some significant variations of the energy metabolism values was observed. Thiourea produces a decrease of the energy metabolism with 80.2% in the pigeon and 74.09% in the ring dove.

The repeated doses of thiourea determined hypometabolic effects, more accentuated than the unique doses.

The subcutaneous administered thyroxine and one dose in 0.5 mg/kg dose, produces a maximum hypermetabolic effect (88.9%) in the fifth hour from administration in pigeon.

At the groups exposed at 10°C temperature, the hypermetabolic effect of thyroxine was more evident than at 25–27°C temperature. The obtained results in the ring dove are similar with those in the pigeon.

The doses repeated in a period of 10 days induced a metabolic decrease of the energy metabolism in the fourth and the sixth day, both in the pigeon and in the ring dove.

#### BIBLIOGRAFIE

- ANDERSSON B., EKMAN L., JOBIN M., OLSSON K., ROBERTSHAW D., 1967, *Acta physiol. scand.* **69**, 111.  
 BRIGETON D., KRUM-HELLER C., 1949, *C.R. Soc. Biol. Paris*, **143**, 942–944.  
 BOST C. H., TAYLOR N. B., 1958, *Bazele fiziologice ale practicii medicale*, Ed. medicală, București.  
 FABER H., 1966, *J. Ornith.*, **107**, 27–36.  
 FARNER D. S., 1958, *Auk*, **75**, 249–262.  
 HART J. S., 1962, *Physiol. Zool.*, **35**, 224–236.  
 HEROUX O., 1960, *Fed. Proc.*, **19**, 5, 43.  
 KAYSER CH., 1929, *Ann. physiol. physicochim. biol.*, **15**, 131–223.  
 — 1955, *Arch. Sci. physiol. (Paris)*, **9**, 14.  
 MCCARNEY M. G., SHAFFNER C. S., 1950, *Poultry Sci.*, **29**, 67–77.  
 MELLE W. J., HILL F. W., 1953, *Poultry Sci.*, **32**, 994–1001.  
 MELLE W. J., 1958, *Poultry Sci.*, **37**, 3, 672–679.



13. — 1964, Poultry Sci., 43, 3, 776—777.
14. ROMIJN C., 1950, Tijdschr. Diergeneesk., 75, 839—856.
15. SELLABARGER C. J., 1955, Poultry Sci., 34, 1437—1440.
16. SLONIM A. D., 1966, *Fiziologia termoregulației i termiceskoi adaptații u seliskohoziaistvenn*  
*животнх*. Izdatelstvo Nauka, Moskva—Leningrad, 1—61.
17. SMITH R. E., 1960, Fed. Proc., 19, 5, 43.
18. SULMANN F., PEREK M., 1947, Endocrinology, 41, 514—517.

*Facultatea de biologie  
Catedra de ecologie și fiziologie animală  
București 35, Splaiul Independenței 91—95.*

Primit în redacție la 25 ianuarie 1973.

## ACȚIUNEA NEMBUTALULUI ASUPRA UNOR PARAMETRI SANGVINI LA IEPURE

DE

HORST KOLASSOVITS

Nembutal (Natrium pentobarbital), 45 mg/kg body weight diminished the protein and potassium concentrations of the plasma in rabbits. Water content of the blood, percent plasma volume, sodium and calcium concentrations of the plasma were not affected.

Nembutalul (pentobarbital de sodiu) este un anestezic mult utilizat în experiențe pe animale, datorită efectului său îndelungat și gradului redus de toxicitate. Cunoașterea efectelor secundare ale unui anestezic este însă importantă, deoarece acestea pot interfera cu acțiunea factorului experimental urmărit. Ele depind nu numai de natura anestezicului, ci și de doza acestuia, de modul de administrare și de specia pe care se lucrează.

Acțiunea pentobarbitalului a fost mult studiată în ce privește funcțiile sistemului nervos, respirația, hemodinamica etc. (3). În ce privește compoziția sîngelui, datele sînt puține. La iepure, el provoacă reducerea concentrației de hemoglobină din sînge, scăderea glicemiei și a concentrației proteinelor serice; la o doză de 50 mg pe kg-corp, efectul este maxim în 20—30 minute de la instalarea anesteziei și dispare complet la revenirea în această stare (1). La ciine, chiar în doză de 20 mg/kg, nembutalul modifică echilibrul acido-bazic al sîngelui și gradul de oxigenare al acestuia (4). În anumite condiții, la iepure, el poate duce la micșorarea volumului de sînge circulant, probabil prin trecerea unei cantități de plasmă în vase în țesuturi (2).

Noi am întrebuițat nembutalul în experiențe pe iepure, referitoare la efectele dezechilibrării componentei cationice a sîngelui. Am avut deci nevoie să știm dacă administrarea anestezicului nu a avut ca atare o

influență asupra vreunui din parametri urmăriți. Rezultatele experimentelor propriu-zise vor fi publicate separat. În prezenta notă, ne referim la efectele anestezicului.

#### MATERIAL ȘI METODE

Am lucrat pe iepuri de rasă Chinchilla, de ambele sexe, în greutate de 2,5–3,5 kg, niți până în prețuia experienței.

Nembutalul a fost administrat intraperitoneal, în doză de 45 mg pe kg-corp. Utilizat preparatul firmei Abbott (Chicago). Anestezia s-a instalat în circa 30 minute și menținut timp de 2½–3 ore.

Înainte de administrarea anestezicului s-a recoltat o probă de sînge, iar după instalarea completă a anesteziei încă una sau două probe. Toate probele au fost recoltate din vena pericardică dreaptă și volumul lor a fost de cîte 3 cm³. Recoltarea s-a făcut pe heparină. Au determinat următorii parametri:

hidremia: gravimetric, pe sînge integral;

volumul plasmatic: în tuburi de hematocrit, prin centrifugare;

concentrația proteinelor plasmatice: refractometric;

concentrația sodiului, a potasiului și a calciului în plasmă și în sînge integral, la fometrul cu flacăra.

#### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele noastre sînt date în tabelul nr. 1. Aici concentrațiile cationilor sînt exprimate în mg pe 100 cm³ de sînge. Valorile au fost calculate din datele obținute la fotometrul cu flacăra în determinările pe plasmă și pe sînge integral, după formulele:

$$\text{mg cationi plasmatice pe } 100 \text{ cm}^3 \text{ sînge} = \frac{N \cdot C_p}{100};$$

$$\text{mg cationi globulari pe } 100 \text{ cm}^3 \text{ sînge} = C_s - \frac{N \cdot C_p}{100};$$

Tabelul nr. 1  
Modificarea unor parametri sanguini în anestezia cu nembutal

Animalul treaz		Animalul anesteziat	D	D %	P
Vol. plasmatic %	64,6±0,6 (20)	64,8±0,6 (20)	+0,2	+ 0,3	> 0,1
Hidremia, %	82,3±0,4 (20)	82,4±0,4 (20)	+0,1	+ 0,1	> 0,1
Conc. prot. a plasmei, %	6,77±0,14(22)	6,33±0,06(19)	-0,44	- 6,5	< 0,01
K plasmatic	11,6±0,4 (18)	8,8±0,3 (18)	-2,8	-24,1	< 0,01
K globular	124,8±3,8 (18)	122,9±3,3 (18)	-1,9	- 1,5	> 0,1
Ca plasmatic	9,3±0,3 (18)	8,9±0,2 (18)	-0,4	- 4,3	> 0,05
Ca globular	0,08±0,14(18)	0,15±0,16(18)	-	-	> 0,1
Na plasmatic	217,0±5 (15)	217±5 (15)	0	0	-
Na globular	47,1±5,0 (14)	46,9±6,0 (12)	-0,2	- 0,4	> 0,1

Valorile din primele două coloane reprezintă media ± eroarea standard, în paranteză numărul de indivizi. D = diferența dintre valoarea parametrilor înainte și după anestezie. P = gradul de semnificație al diferenței.

de: N = cm³ plasmă la 100 cm³ sînge (hematocrit);

Cp = cationi în plasmă, mg/100 cm³;

Cs = cationi în sînge integral, mg/100 cm³.

După cum se vede din tabel, anestezia cu nembutal a provocat modificări semnificative în ce privește concentrația proteinelor și a potasiului în plasmă. În ambele cazuri, valoarea este scăzută la animalul anesteziat în comparație cu martorul treaz. Scăderile un sînt mari, dar nu sînt net semnificative din punct de vedere statistic. Valorile celorlalți parametri au rămas complet neinfluențate de administrarea nembutalului.

Rezultatul privitor la proteinele plasmatice confirmă datele lucrării anterioare mai sus (1). Referitor la potasiul plasmatic nu am găsit date în literatură, legate de anestezia cu barbiturice.

#### CONCLUZII

1. La iepure, pentobarbitalul sodic administrat în doză de 45 mg pe kg-corp provoacă o ușoară scădere a concentrației de proteine plasmatice și a concentrației K-ului în plasmă.

2. Volumul plasmatic, hidremia, concentrația sodiului, a potasiului și a calciului globular, precum și a sodiului și calciului plasmatic rămîni nemodificate.

Autorul mulțumește tovarășului dr. Madar Iosif pentru sfaturile și ajutorul permanent pe care i le-a dat în ce privește tehnica experimentală.

(Avizat de prof. E. A. Pora.)

#### VIRKUNG DES NEMBUTALS AUF EINIGE BLUTKONSTANTEN DES KANINCHENS

#### (ZUSAMMENFASSUNG)

Es wurde die Wirkung von Nembutal (Na-Pentobarbital, Abbott, Chicago) auf einige Blutkonstanten bei Kaninchen untersucht. Vor Nembutalverabreichung (45 mg per Körpergewicht, i. p.) und nach halbtägiger Anästhesie wurden Blutproben aus der Ohrtrandvene entnommen. Statistisch signifikant vermindert war der Protein- und Kaliumgehalt des Blutplasmas. Das prozentuelle Plasmavolumen, der Wasser-gehalt des Blutes, die Na-, K- und Ca-Konzentration in den Blutkörperchen, sowie die Na- und Ca-Konzentration im Blutplasma blieben unverändert.

## BIBLIOGRAFIE

1. KOHN H. I., SWINGLEY N., 1950, Amer. J. Physiol., **160**, 277—284.
2. MACKINNA J., 1954, J. Physiol. (Lond.), **124**, 44—45.
3. DRILL V. A., 1958, *Pharmacology in Medicine*, McGraw-Hill, New York.
4. LEDSOME J. R., LINDEN R. J., NORMAN J., 1971, J. Physiol. (Lond.), **212**, 611—627.

Universitatea „Babeş Bolyai”  
Catedra de fiziologie animală  
Cluj, str. Clinicilor nr. 5—7

Primit în redacție la 15 noiembrie 1972.

## VARIAȚIA SEZONIERĂ A MAGNEZIEMIEI LA RUMEGĂTOARE

DE

MIHAI DUMITRU

The investigations were carried out one year in a group of 30 dairy cows. We effected monthly magnesium determination from blood serum by titan gelb colorimetric method.

Our data showed that in our country's conditions there is a seasonal variation of magnesaemia with lower levels in spring and autumn. This fact explain why the nutrition tetany has a more marked frequency in these seasons. Yearly variation of magnesaemia is the result of the conjugated influence of season and diet.

Magneziul constituie unul din elementele minerale foarte importante din punct de vedere biologic. El intervine într-un număr mare de reacții enzimatice, ceea ce îl face indispensabil atât organismelor din regnul animal, cât și celor din regnul vegetal.

Magneziemia variază în funcție de o serie de factori printre care sezonul are o influență destul de mare.

Influența sezonului asupra magneziemiei a fost recunoscută încă în 1938 de către Allcroft și Green (1), apoi de către Barker (3), Brochard și Larvor (5), Breirem (4), Cornette (7) etc.

Odată cu creșterea numărului cazurilor de hipomagneziemie la rumegătoare, cunoașterea cât mai completă a etiopatogeniei acestei boli și găsirea celor mai eficiente măsuri de combatere și prevenire impun studiarea tuturor factorilor care influențează concentrația magneziului în sânge la rumegătoare.

Având în vedere aceste considerații și ținând cont de faptul că literatura autohtonă este în general săracă în studii privind magneziemia



la animale, ne-am propus să studiem în condițiile țării noastre varia-  
sezonieră a magneziei la rumegătoare.

MATERIAL ȘI METODĂ

Observațiile noastre au fost efectuate pe un lot de 30 de vaci pentru producție  
lapte, din rasa Bălțată românească, vîrsta 4-10 ani, proprietatea Stațiunii experien-  
didactice Băneasa.

Animalele au fost întreținute în condiții de stabulație și au fost furajate diferit,  
sezon. În perioada noiembrie-aprilie rația zilnică a fost compusă din furaj succulent (por-  
însilozat, sfeclă furajeră sau tălîi de sfeclă), fin natural sau fin de borceag și lucernă, con-  
trate și amestec mineral. În perioada mai-octombrie, animalele au primit la grajd sau pa-  
pe lingă concentrate, masă verde cosită (secară, lucernă, trifoi, porumb furajer).

Timp de un an s-a făcut lunar dozarea magneziului seric prin metoda colorime-  
cu titan gelb.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Datele obținute au fost prelucrate statistic și sînt prezentate  
formă de tabele și figura nr. 1. Analiza rezultatelor arată că și în condi-  
țării noastre există o variație sezonieră a magneziei. Se constată  
valorile cele mai mari ale magneziei se întîlnesc iarna și vara, iar  
mai mici primăvara și toamna. În lunile aprilie și mai noi am găsit  
mai scăzută magnezie ( $2,43 \pm 0,053$  și, respectiv,  $2,45 \pm 0,053$ ),  
cea mai crescută magnezie am întîlnit-o în lunile ianuarie și decem-  
( $3,84 \pm 0,08$  mg% și, respectiv,  $3,76 \pm 0,08$  mg%). O ușoară scă-  
față de lunile de vară se constată și în octombrie și noiembrie. La  
animale scăderea s-a observat în octombrie, la altele în noiembrie, la  
număr mai restrîns în septembrie. Din această cauză, mediile din lu-  
de toamnă nu sînt în mod evident scăzute față de lunile de vară. Ex-  
deci variații individuale în ceea ce privește momentul scăderii magne-  
mici toamna. Din analiza varianței rezultă că există o diferență semi-  
cativă ( $P > 0,01$ ) între lunile aprilie și mai, pe de o parte, și cele  
uni, pe de altă parte (tab. nr. 1).

Tabelul nr. 1

Variația sezonieră a magneziei

Luna	X ± SX	Limite
Martie	$3,30 \pm 0,063$	2,0-4,4
Aprilie	$2,43 \pm 0,053$	1,5-3,8
Mai	$2,45 \pm 0,053$	1,2-3,6
Iunie	$3,24 \pm 0,059$	2,2-4,0
Iulie	$3,47 \pm 0,020$	2,6-4,4
August	$3,36 \pm 0,020$	2,4-4,4
Septembrie	$3,27 \pm 0,059$	2,6-3,9
Octombrie	$3,16 \pm 0,060$	2,6-3,6
Noiembrie	$3,17 \pm 0,022$	2,6-3,6
Decembrie	$3,76 \pm 0,080$	3,1-4,2
Ianuarie	$3,84 \pm 0,080$	3,1-4,7
Februarie	$3,55 \pm 0,080$	3,0-4,5

Observațiile noastre concordă cu datele lui Cornette și colab.  
care semnalează cele mai scăzute valori ale magneziei în lunile  
ilie și mai, cînd se întîlnesc cele mai multe cazuri de tetanie, precum  
cu datele lui Barker (3), care remarcă faptul că variația sezonieră  
magneziei tinde a urma în sens invers concentrația substanței pro-  
ce din iarbă.

Majoritatea autorilor explică scăderea magneziei, primăvara și  
amna prin condiții meteorologice specifice acestor anotimpuri (scăderi  
ste de temperatură care duc la diferențe mari între minima și maxima  
cursul aceleiași zile, ploile abundente și reci) care acționează ca factori  
essanți, exercitîndu-și influența în primul rînd prin intermediul tiroidei  
corticosuprarenalei.

Aleroft (2) și Hart (9) au semnalat asocierea foarte frecventă  
etaniei de iarbă cu un timp ploios, rece și cu vînt. Există o corelație  
portantă între cantitatea de ploaie și coeficientul de utilizare al pă-  
nilor (iarba consumată în procente din iarbă disponibilă). Ploaia diminuează  
ensitatea pășunatului și prin aceasta ingestia globală de materie us-  
tă (Ladrat și colab. (10)).

Observațiile noastre confirmă ipoteza lui Brochard și Lar-  
r (5) după care metabolismul magneziului suferă fluctuații sezoniere,  
ce ne permite să presupunem că scăderea sezonieră a magneziului  
e o scădere fiziologică.

Pentru a urmări în ce măsură aportul alimentar de magneziu in-  
tează concentrația serică a acestui element, am dozat magneziul  
nutrețurile ce au intrat în rația animalelor luate în studiu. Lunar s-a  
culat valoarea totală a magneziului din rație și s-a dozat magneziul  
ic pentru a aprecia corelația existentă (tab. nr. 2 și fig. 1).

Tabelul nr. 2

Valoarea magneziului din rație și serul sanguin

Luna	Magneziul din rație g	Magneziul din ser mg%
Martie	32,9	$3,30 \pm 0,063$
Aprilie	32,9	$2,43 \pm 0,053$
Mai	23,1	$2,45 \pm 0,053$
Iunie	36,6	$3,24 \pm 0,059$
Iulie	51,7	$3,47 \pm 0,020$
August	57,9	$3,36 \pm 0,020$
Septembrie	38,4	$3,27 \pm 0,059$
Octombrie	39,3	$3,16 \pm 0,060$
Noiembrie	40,4	$3,17 \pm 0,022$
Decembrie	40,4	$3,76 \pm 0,080$
Ianuarie	40,4	$3,84 \pm 0,080$
Februarie	42,4	$3,55 \pm 0,080$

Datele obținute arată că în luna mai cînd s-a făcut furajarea cu  
ară masă verde, valoarea magneziului seric este cea mai scăzută, con-  
dînd cu valoarea aportului în magneziu. În celelalte luni se constată  
aport crescut de magneziu, ceea ce corespunde, cu excepția lunii aprilie,  
un nivel crescut al magneziei.

Se poate aprecia că nivelul magneziemiei nu este în toate la direct proporțional cu aportul în magneziu. Avem în acest caz un exemplu de reglare complexă a proceselor de absorbție, excreție și reținere, care duce în cele din urmă la menținerea între anumite limite a concentrației normale a magneziului seric. Așa cum am constatat și noi în experiența de bilanț, atunci când aportul de magneziu este mare crește eliminarea pe cale urinară, pe când în cazul unui aport scăzut această eliminare se reduce ajungând uneori la zero (11), (12), (14).

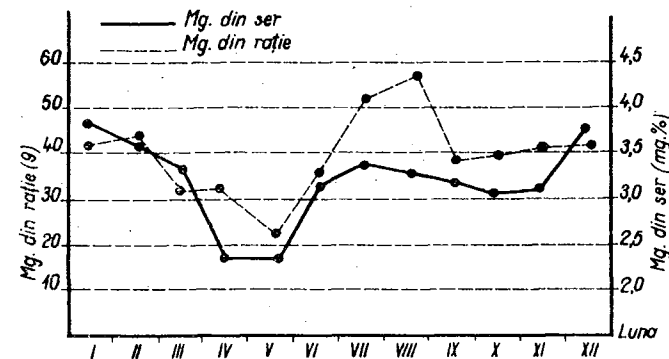


Fig. 1 — Variația sezonieră a magneziemiei și corelația sa cu conținutul de magneziu din rație.

Pericolul apariției hipomagneziemiei în urma unui aport redus de magneziu este explicat prin aceea că organismul își reajustează anev eliminarea fecală de magneziu la nivelul aportului (5). Datorită di care de obicei însoțește trecerea bruscă la alimentația verde, se elin o cantitate crescută de magneziu prin fecale (6). În timpul pășunat de primăvară se formează cantități mari de amoniac în rumen, care la formarea de compuși amoniaco-magnezieni insolubili (8).

Rosenberger și colab. (13) arată că influența singulară sezonului nu constituie o cauză hotărâtoare în comportarea valorii magneziului seric. În schimb, furajul tinăr de pe pășune are o influență mai evidentă.

Din cele relatate se poate aprecia că dinamica anuală a magneziemiei pare a rezulta din influența conjugată a sezonului și a aportului alimentar. Scăderea magneziemiei îndeosebi în lunile de primăvară explică frecvența mai mare în această perioadă a tetaniei de nutriție vaci și în special la tineretul taurin supus îngrășării de tip industrial.

Cunoașterea fluctuației sezoniere a magneziemiei prezintă importanță practică pentru luarea măsurilor de prevenire a tetaniei de nutriție, alcătuirea în perioadele de scădere a magneziemiei a unor rații formate din nutrețuri bogate în magneziu sau atunci când situația impune introducerea în rație a unor suplimente minerale de magneziu în perioadele trecerii animalelor la pășunat, când scăderea magneziemiei se accentuează.

## CONCLUZII

1. Valoarea medie anuală a magneziemiei la bovinele adulte este de 3,5 mg% cu variații cuprinse între 2,43—3,84 mg%.
2. Valorile cele mai mari ale magneziemiei se întâlnesc în lunile de iarnă și vară, iar cele mai mici primăvara și toamna.
3. Variația anuală a magneziemiei este rezultatul influenței conjugate a sezonului și alimentației.
4. Existența unei variații sezoniere a magneziemiei cu valori mai scăzute primăvara și toamna explică de ce tetania de nutriție apare mai des în aceste anotimpuri.

(Avizat de prof. E. A. Pora.)

## THE SEASONAL VARIATION OF MAGNESEAEMIA IN RUMINANTS

## SUMMARY

Magnesium is one of the mineral elements which intervene in a series of enzymatic reactions occurring in the animal organism. The knowledge of its physiologic variations has a great importance for biology and animal feedings.

Our observations were carried out in a group of 30 dairy cows. Magnesium determination has been achieved one year running following both season- and diet-influences.

The data obtained showed that in our country's conditions, like in other countries, a seasonal variation of magnesaemia is to be observed. We have found that the highest levels of magnesaemia occur in winter and in summer, and the lowest ones in spring and autumn. The lowest magnesaemia was found in April and May ( $2.43 \pm 0.053$  and  $2.45 \pm 0.053$  mg%, respectively), coinciding with the period within which the frequency of nutrition tetany in ruminants is greater. In the winter and summer months, magnesaemia is higher than in spring.

The seasonal variation of magnesaemia is the result of the conjugated influence of the climatic conditions and of diet. Fodder has a different content of Magnesium depending on the season, while the different climatic conditions, specific to each season act as stress factors, especially in spring and in autumn, because of the sudden variations occurring from one day to another or within the same day.

## BIBLIOGRAFIE

- ALLCROFT W. M., GREEN H. H., 1938, J. comp. Path., 51, 176.  
 ALLCROFT W. M., 1947, Vet. J., 103, 75.  
 BARKER E. E. et al., 1959, J. clin. Invest., 38, 1733.  
 BREIREM K., HVIDSTEN H., 1966, Ztschr. Tierphysiol., Tierernährung Füttermittelk., 21, 290—318.

5. BROCHART M., LARVOR P., 1961, Ann. Zootech., **10**, 1, 45—55.
6. CARE A. D. et al., 1963, Res. Vet. Sci., **4**, 1, 24—38.
7. CORNETTE M., GILBERT M., 1967, Bull. Acad. vet. de France, **5**, 241—246.
8. HEAD M. J., ROOK J. A. F., 1951, Nature, (Lond.), **176**, 262.
9. HART M. L., 1960, Proc. Brit. vet. Ass. Conf. Hypomagnes., Londra, 88—95.
10. LADRAT I. et al., 1960, Rec. Méd. Vét., **145**, 103.
11. L'ESTRANGE J. L. et al., 1966, J. Agric. Sci., **67**, 295—304.
12. ROOK J. A. F. et al., Nutr. Abstr. Rev., 1962, **32**, 1055.
13. ROSENBERGER G. et al., Dtsch. Tierärztl. Wschr., 1962, **69**, 265—268.
14. WILSON A. A., 1964, Vet. Rec., **76**, 1382—1392.

Facultatea de medicină veterinară  
București 35  
Splaiul Independenței 105

Primit în redacție la 17 ianuarie 1973.

## MODIFICAREA NUMĂRULUI DE ERITROCITE ȘI A CANTITĂȚII DE HEMOGLOBINĂ SUB ACȚIUNEA GLUTATIONULUI ADMINISTRAT ȘOBOLANILOR SUPUȘI LA EFORT MUSCULAR

DE

N. STĂNCIOIU și V. ȘERBĂNESCU

By determining the packed cell and hemoglobine contents in the blood of some albino male rats treated with glutathione and subjected to muscular strain, a decrease in the number of the studied blood elements, as compared to the normal, was established.

De la descoperirea de către Hopkins (7) a glutationului în lumea vie, un mare număr de autori au arătat rolul acestui polipeptid în reacțiile biologice. S-a arătat, printre altele, că glutationul din sânge scade timpul intensificării proceselor metabolice, ca hipertiroidia, efortul muscular sau atunci când oxigenul este insuficient față de cerințele țesuturilor (1), (4), (11), (12), (14), (17).

Se cunoaște, de asemenea, că administrarea de glutation în cazurile care oxidațiile tisulare sînt mărite reduce nivelul acestor oxidații fără a pune de insuficiență în producerea de energie (5), (8) — (10), (13), (6), (18). Fenomenele se petrec ca și cum organismul ar funcționa mai „economic” în sensul unei mai bune utilizări a energiei eliberate prin oxidații. În acest fel pentru o anumită cantitate de energie utilizată ar fi nevoie de un consum mai mic de oxigen. Efectul favorabil al glutationului în intoxicațiile cu —CN pledează în același sens.

Se știe, pe de altă parte, că hipoxia duce la mărirea cantității de hematie și de hemoglobină în sânge pe cale adrenalinică sau a eliberării eritropoetine (19).



Ținând seama de reducerea nevoilor de oxigen sub influența glutatationului administrat animalelor supuse efortului muscular, în prezenta lucrare ne propunem să arătăm cum această reducere a consumului de oxigen, în acest caz, este însoțită și de o micșorare a numărului de globuli roșii și a cantității de hemoglobină.

#### MATERIAL ȘI METODĂ

Experiența a fost efectuată pe un număr de 50 de șobolani albi, masculi, în greutate de 298–336 g. Animalele erau alimentate cu pîine, ovăz, lapte și morcovi.

Se determina mai înainte fondul fiziologic normal al eritrocitemiei și hemoglobinei recoltind sînge din arterele coccigiene (prin amputarea cozii). Numărul eritrocitelor se determina prin metoda clasică a camerelor umede cu hemocitometrul Goriaev, iar cantitatea de hemoglobină cu hemoglobinometrul Gowers-Sahli. Animalele erau apoi supuse unui efort muscular intens, fiind obligate să înoate într-un bazin cu apă (37°) timp de 30 de minute. La sfîșitul acestui efort se recolta din nou sînge și se determinau aceleași componente sanguine. După o pauză de o zi aceleași animale li se administra parenteral glutatation în doză de 0,65 g/animal. Glutatationul era mai înainte dizolvat în ser fiziologic și neutralizat cu NaOH. După 30 de minute de la injectarea glutatationului, animalele erau introduse în bazinul cu apă și supuse efortului muscular în aceleași condiții ca mai înainte. La terminarea efortului muscular se recolta sînge și se determinau constantele sanguine luate în studiu.

#### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele obținute sînt prelucrate statistic și redată ca medii în tabelele nr. 1 și 2 și în figurile 1 și 2.

În tabelul nr. 1 sînt prezentate date referitoare la variația eritrocitemiei. Se observă că în efort, după cum era de așteptat, numărul eritrocitelor crește cu 80% mai mult decît în starea de repaus ( $\bar{X} = 11,00 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0,50$  față de  $\bar{X} = 8,22 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0,40$ ). Comparînd rezultatele obținute în cazul administrării de glutatation animalelor supuse efortului cu cele obținute în cazul efectuării efortului fără injecție de glutatation se constată că sub influența glutatationului numărul de eritrocite scade ( $\bar{X} = 11,00 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0,50$  și  $\bar{X} = 8,11 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0,30$  în efort + glutatation).

Tabelul nr. 1

Numărul eritrocitelor la șobolani în repaus, după efort și după administrarea de glutatation și supuși efortului muscular (milioane/mm<sup>3</sup>)

n	Înainte de efort	După efort	După tratam. cu glutatation și efort
50	8,22 ± 0,40	11,00 ± 0,50	8,11 ± 0,30

În tabelul nr. 2 sînt prezentate date referitoare la variația cantității de hemoglobină. La animalele cercetate cantitatea de hemoglobină variază liniar cu numărul de eritrocite. Astfel, aceasta crește în efort ( $\bar{X} = 15,75$

Tabelul nr. 2

Variația cantității de hemoglobină la șobolani tratați cu glutatation și supuși efortului muscular (g% ml sînge)

n	Înainte de efort	După efort	După tratam. cu glutatation și efort
50	13,97 ± 0,70	15,75 ± 0,65	11,07 ± 0,60

0,65 g%) față de starea de repaus ( $\bar{X} = 13,97 \pm 0,70$  g%) și scădea atunci cînd animalele erau tratate cu glutatation și supuse efortului muscular ( $\bar{X} = 11,07 \pm 0,60$  g%).

În ce privește creșterea numărului de eritrocite și a cantității de hemoglobină în sîngele animalelor supuse efortului muscular, rezultatele noastre sînt asemănătoare cu cele găsite de alți autori (2), (3), (6), (9) în diverse lucrări s-a putut observa că sub influența glutatationului

Legendă

Repous  
Efort  
Efort + Glutatation

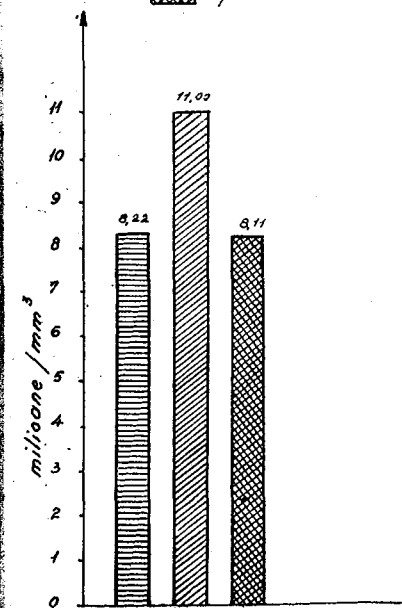


Fig. 1. — Modificarea numărului de eritrocite sub influența glutatationului administrat șobolanilor supuși la efort muscular.

Legendă

Repous  
Efort  
Efort + Glutatation

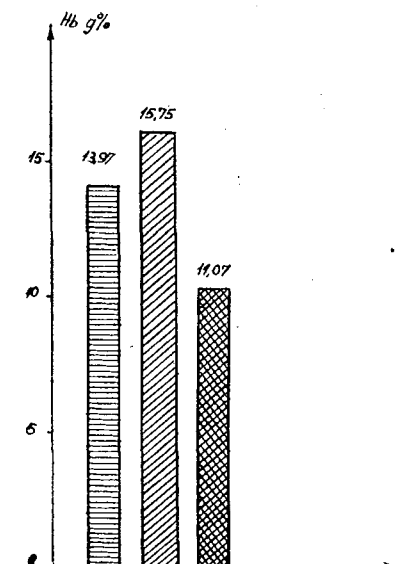


Fig. 2. — Scăderea cantității de hemoglobină sub influența glutatationului administrat șobolanilor supuși la efort muscular.

scădea consumul de oxigen la animalele supuse efortului muscular (12), (14), (15). În acest caz s-ar putea presupune că gruparea — intră în lanțul respirator și participă la reacțiile de oxidoreducere înlocuind oxigenul. După cum a arătat Hopkins în lucrările sale procesul este mult mai complex, dar un lucru se cunoaște bine, și anume că glutathionul ia parte activă în procesele oxidoreducătoare la nivel celular. Din necesarul în oxigen scade prin administrare de glutathion la animalele supuse efortului muscular, așa cum a fost arătat în lucrările amintite, atunci este ușor de înțeles de ce în aceleași condiții scade cantitatea de hemoglobină și numărul de globule roșii după datele obținute de

## CONCLUZII

1. Glutathionul administrat șobolanilor albi supuși la efort muscular produce micșorarea numărului de eritrocite și a cantității de hemoglobină care erau ridicate la animalele netratate.
2. Nu s-a constatat clinic nici o altă modificare produsă de glutathionul administrat șobolanilor supuși la efort muscular. Greutatea corporală a acestora rămânea neschimbată pe toată durata experienței.

(Avizat de prof. E. A. Pora.)

## BIBLIOGRAFIE

1. ALEXANDROVA C. V., Konevodstvo, 1952, 11, 30.
2. BACIU I., ROSENFELD E., DOROFTEI M., RUSU N., St. și cerc. medic., 1959, 10, 1, 47—60.
3. BEAUX A. R., C.R. Soc. Biol., 1935, 36, 822.
4. BINET LEON et col., C.R. Soc. Biol., 1934, 16, 1284.
5. BINET LEON, BOUCHET MADELEINE, C.R. Soc. Biol., 1937, 126, 674.
6. DOMILESCU C. și col., Probleme Med. Vet. Exp., 1958, 101.
7. HOPKINS F., SUCIU STAN, Biochem. J., 1921, 15, 286.
8. HOPKINS F., DIXON M., J. biol. Chem., 1922, 54, 527.
9. HOPKINS F., Biochem. J., 1925, 19, 787.
10. HOPKINS F., J. biol. Chem., 1929, 84, 269.
11. NITZESCO I. I., SUCIU-STAN, C.R. Soc. Biol., 1940, 133, 518.
12. PARHON C. C., POPESCU I., ILIOASA EL., Rev. de fiziol. norm. și pat., 1957, 2, 123.
13. PARHON C. C., ILIOASA EL., Lucr. St. I.A.N.B., 1959, Seria C.
14. PARHON C. C., ILIOASA EL., St. și cerc. fiziol., 1960, 1, 49.
15. PARHON C. C., POPESCU I., PETCU GEORGETA, Lucr. St. I.A.N.B. 1960, 64.
16. PARHON C. C., POPESCU I., BÎRZĂ ELENA, PETCU GEORGETA, Lucr. St. I.A.N.B., seria C, 1965, 8, 153—155.
17. PARHON C. C., BÎRZĂ ELENA, STĂNCIOIU N., Lucr. St. I.A.N.B. seria C, 1966, 9, 555—557.
18. TELUPILOVE O., KRESTYNOVA U., SANTORY F., Pflugers Arch., 1958, 266, 473.
19. VARACHIU N. și colab., Lucr. St. I.A.N.B., seria C, 1960, 4, 163—185.

Facultatea de medicină veterinară  
Laboratorul de fiziologie  
București 35, Splaiul Independenței 105

Primit în redacție la 2 decembrie 1972.

# PACKED CELL NUMBER AND HEMOGLOBINE BLOOD VARIANCE AFTER GLUTATHIONE TREATMENT AND MUSCULAR STRAIN IN RATS

## SUMMARY

The packed cell number and hemoglobin blood quantity variance of some male albino rats treated with glutathione and subjected to muscular strain was determined.

It was shown that the 10 mg/animal dosis of glutathione administered half an hour before muscular strain causes an around 8% packed cell decrease, i.e. from  $11.00 \pm 0.50$  millions/mm<sup>3</sup> blood during the strain,  $8.11 \pm 0.30$  millions/mm<sup>3</sup> in the untreated controls.

A proportional hemoglobin decrease from  $15.75 \pm 0.65\%$  to  $11.07 \pm 0.60\%$ , has been noted.

## ACȚIUNEA CURENTULUI ELECTRIC SINUSOIDAL CU FRECVENȚA DE 400 Hz ASUPRA CORDULUI DE BROASCĂ

DE

C. PORTELLI

Changes in the amplitude, duration and frequency of the electrocardiographic waves occur under the influence of a sinusoidal electric current of 400 Hz. They are probably due to an increase of the time constants in the cell depolarization and repolarization, as well as to a decrease in the resting potential of the cell.

Într-o lucrare anterioară (5) am studiat acțiunea curenților electrice sinusoidali, cu frecvența între 16—25 000 Hz, asupra motilității și integrității unor ciliate (protozoare) din specia *Stylonychia*. Cu această ocazie s-au urmărit microscopic ciliatele și s-a observat că, sub influența curenților electrice sinusoidali, au apărut 4 tipuri de modificări celulare:

1. Schimbarea sensului de înot al ciliatului, deplasarea nemaifăcându-se înainte (în sensul polului celular anterior), ci înapoi (în sensul polului celular posterior).
2. Rotăția celulelor în jurul unui punct fix, determinat de polul celular posterior;
3. Paralizia celulelor;
4. Distrugerea membranei celulare și dispersia conținutului citoplasmatic în mediul de cultură.

Toate aceste efecte au depins atât de intensitatea curentului electric sinusoidal, cât și de frecvența lui. Pentru o anumită frecvență menținută constantă, cele 4 efecte au apărut în ordinea mai sus menționată, măsură ce intensitatea curentului electric aplicat a crescut. S-au trasat curbele reprezentative ale intensității minime ale curentului electric sinusoidal, capabil să producă un anumit efect în motilitatea sau aspectul ciliatului, în funcție de frecvența curentului și s-au obținut următoarele spectre (fig. 1).



Din grafic a apărut clar, existența unei eficiențe maxime a curentului sincronizate (prin inducție reciprocă) pe aceeași frecvență de emisie a impulsurilor. În mod obișnuit, celulele din ganglionul lui Remak generează potențialele de acțiune cu frecvența cea mai ridicată. Aceste potențiale să producă cele 4 efecte, cu intensități minime de curent.

Aceste aspecte au mai sugerat însă și ideea existenței mai multor niveluri funcționale celulare, fiecare nivel fiind caracterizat printr-un nivel propriu de potențial de prag-frecvență.

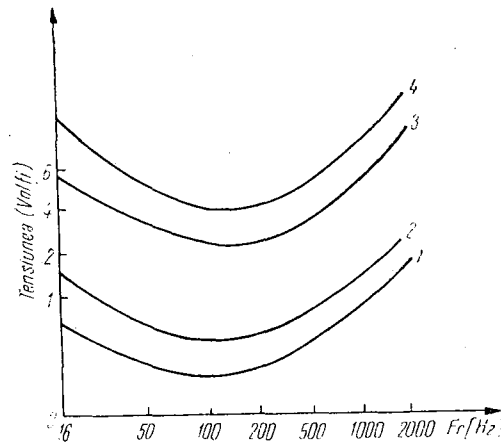


Fig. 1 — Tensiunea prag, în funcție de frecvența curentului electric sinusoidal necesară pentru a obține un anumit efect fiziologic la *Stylomys*. 1, Curba tensiune prag-frecvență, pentru efectul de rotație al celulelor în jurul polului posterior; 2, Curba tensiune prag-frecvență, pentru efectul de inversare a direcției de înot; 3, Curba tensiune prag-frecvență, pentru efectul de paralizare al mișcărilor celulare; 4, curba tensiune prag-frecvență, pentru efectul de rupere al membranei celulare.

anumit tip de automatism motor. S-a presupus, de asemenea, că un mecanism funcțional e legat de o anumită valoare a potențialului transmembranar celular.

O lucrare a lui Yutaka Naitoh și Roger Eckert a venit să întărească această ipoteză. Cei doi autori au eșuat, cu ajutorul microelectrozilor potențialele electrice intracelulare de la o specie de ciliat numită *Euplotes*. Excitând celula de *Euplotes*, cu un stimul luminos la nivelul polului celular posterior, s-a produs o hiperpolarizare a membranei și cilii s-au orientat pentru înot înainte. Dacă, însă, s-a excitat cu un stimul luminos polul celular anterior, atunci potențialul membranal s-a micșorat și cilii au căpătat poziții pentru înot înapoi. În concluzie, fenomenele de înot înainte sau de înot înapoi sunt corelate cu o anumită valoare a potențialului transmembranar. A apărut ca plauzibilă ipoteza conform căreia curentii electrice sinusoidali au modificat valorile potențialelor de repaus celulare și au favorizat astfel trecerile de la un nivel funcțional la altul.

Ne-am propus să extindem cercetările despre acțiunea curentului electric sinusoidal și asupra altor sisteme biologice cu mai multe niveluri funcționale și ne-am oprit la cordul de broască.

Se cunoaște, din lucrările devenite clasice (1), (2), (3), că inima de broască posedă pe lângă celulele de tip muscular și celule speciale de tip neuromuscular. Celulele neuromusculare sunt grupate în trei ganglioni: ganglionul lui Remak, situat în peretele sinusului venos, ganglionul lui Ludwig, amplasat în peretele interatrial, și ganglionul lui Bidder, amplasat în șanțul atrioventricular. Celulele din acești ganglioni au proprietatea de a genera, în mod spontan, potențiale electrice de acțiune care se propagă apoi, în masa celulelor musculare ale cordului. Celulele dintr-un gang-

lion sunt sincronizate (prin inducție reciprocă) pe aceeași frecvență de emisie a impulsurilor. În mod obișnuit, celulele din ganglionul lui Remak generează potențialele de acțiune cu frecvența cea mai ridicată. Aceste potențiale se propagă din aproape în aproape și ajung și la celulele situate în ganglionii lui Ludwig și Bidder, pe care le descarcă în mod prematur, impunându-le astfel propria lor frecvență.

Stannius, încă din 1852 (1), (3), a dovedit că, prin fixarea unor ligaturi pe inima de broască, între sinusul venos și atri, sau între atri și ventricul, se produce blocarea transmisiei unei de excitație, de la ganglionul lui Remak, la ganglionul lui Ludwig și respectiv spre cel al lui Bidder. Dacă se poate pune, astfel, în evidență apariția unor ritmuri mai lente, caracteristice centrilor ganglionari inferiori. Prin fixarea unei ligaturi între sinusul venos și atri (ligatura Stannius I), sinusul venos continuă să se contracte sub influența excitației generate de ganglionul lui Remak, timp ce atriile și ventriculul rămân blocate în diastolă. Dacă se intervine cu o a doua ligatură (ligatura Stannius II) la nivelul șanțului atrioventricular, atunci atriile rămân în repaus, în timp ce ventriculul își continuă contracțiile cu un ritm mult mai lent. Cunoșcând poziția anatomică a celor 3 ganglioni, s-a tras concluzia că, ganglionul lui Remak are un rol excitomotor, ganglionul lui Ludwig are o funcție inhibitoare, iar ganglionul lui Bidder are tot un rol excitomotor. În condițiile cordului normal, ganglionul lui Bidder este inhibat de acțiunea ganglionului lui Ludwig, este silit să rămână într-o stare funcțională latentă.

Funcțiile celor trei ganglioni au mai fost cercetate și prin aplicarea, la nivelul lor, a unor curenti electrice faradici (3). S-a observat că aplicarea unui curent electric faradic pe auricule produce oprirea lor în diastolă. Acest fapt a fost interpretat ca o creștere a funcției inhibitoare a ganglionului lui Ludwig, care sub influența curentului electric faradic s-a extins asupra ganglionului lui Remak. Sub acțiunea unui curent electric faradic, aplicat la nivelul ganglionului lui Bidder, s-au produs contracții ritmice rapide, care au fost interpretate ca rezultând dintr-o excitare electrică directă a ganglionului excitomotor a lui Bidder.

Datele mai sus menționate ne-au sugerat ideea, ca în această lucrare, să studiem posibilitatea unei intervenții cu ajutorul curentilor electrice sinusoidali, prin care să provocăm, în funcție de intensitatea lor și de poziția electrozilor, scoaterea din funcție a unor centri generatori de impulsuri (ganglioni) și punerea în evidență (în funcție) a altor ganglioni care în mod normal sunt blocați.

#### MATERIAL ȘI METODĂ

Animalul utilizat în experiență a fost broasca. S-a spinalizat broasca, i s-a deschis traheea și pericardul și s-a pus în evidență cordul. S-a răsturnat cordul cu fața lui posterioară în sus, dar i s-au păstrat toate conexiunile vasculare și nervoase. Pe fața posterioară a cordului astfel evidențiată, s-au amplasat doi electrozi metalici, pentru culegerea potențialelor electrocardiografice și doi electrozi pentru aplicarea curentului electric sinusoidal. Animalul de experiență a fost fixat pe suport și cu ajutorul unei lupte binoculare s-a urmărit în permanență undele contractile ale miocardului (la o mărime de 40 de ori). Electrozii de culegere s-au aplicat întotdeauna pe ventricul. Potențialele recepționate au fost trimise la un electro-

encefalograf tip Galileo cu 6 canale, care a servit pentru amplificarea și înregistrarea ECG pe o hîrtie ce s-a derulat cu o viteză de 15 mm/sec. Pentru a evita introducerea de perturbații electrice, ca urmare a utilizării concomitente a curenților electrici sinusoidali, s-au folosit filtrele electroencefalografului. Electrozii de excitație s-au plasat în cursul experiențelor următoarele poziții: pe sinusul venos, în vecinătatea septului interatrial și la nivelul șanțului atrio-ventricular. Prin electrozii de excitație s-au trimis pe cord curenții electrici sinusoidali cu frecvențe și amplitudini variate. Curenții electrici sinusoidali au fost produși de un generator RC-tip GF<sub>2</sub> Clammm & Grahner, Dresda, capabil să emită curenți de frecvențe între 25 000 Hz (fig. 2).

Cu ajutorul unui termocuplu s-a urmărit în permanență temperatura animalului. Pe unele experiențe s-a recurs la o baie cu apă, termoreglabilă, în care a fost amplasată broasca pentru a se modifica temperatura după dorință.

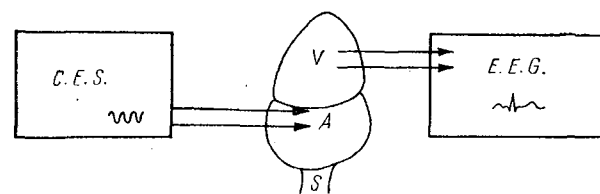


Fig. 2 — Schema montajului experimental. C.E.S., generator de curent electric sinusoidal cu frecvența între 16—25 Hz, E.E.G., electroencefalograf, A, atriu drept, V, ventricul drept, S, sinusul venos.

## REZULTATE

Efectele produse de curenții electrici sinusoidali asupra cordului de broască, au depins de două categorii de factori:

- 1) factorii proprii curentului electric sinusoidal aplicat;
- 2) factorii proprii cordului.

### 1. Factorii proprii curentului electric sinusoidal aplicat

#### a) Frecvența curentului sinusoidal

S-a constatat că există o dependență între frecvența curentului electric sinusoidal aplicat și intensitatea lui minimă, necesară pentru a obține un anumit efect. Intensitățile-prag au fost cu atât mai mici cu cât frecvența curentului a fost mai joasă. Nu s-au putut, însă, trasa curbele care să redea intensitatea minimă a curentului electric sinusoidal necesară pentru a obține un anumit efect. Aceasta pentru că au apărut următoarele complicații de ordin tehnic:

- la frecvențe mici s-au produs fibrilații în masa mușchilor striati din vecinătatea cordului, care au generat astfel artefacte electrice;
- curentul electric cu frecvența sub 100 Hz nu a fost suficient de bine filtrat de filtrele EEG-ului și s-a suprapus ECG-amei;
- la frecvențe mari, peste 1 000 Hz, a devenit necesară utilizarea unor intensități mari ale curenților electrici sinusoidali, pentru a obține aceleași efecte, fapte care au provocat apariția unor fenomene de electroliză la nivelul electrozilor.

Din aceste motive, după stabilirea unor aprecieri de ordin calitativ asupra influenței frecvenței curentului electric sinusoidal, s-a trecut la alegerea unei frecvențe unice, care să fie optimă atât pentru realizarea unor efecte cardiace, cât și pentru înregistrarea unor ECG-ame clare. După o serie de încercări s-a optat pentru frecvența de 400 Hz, care corespunde condițiilor enumerate mai sus. În continuare, toate experiențele s-au efectuat utilizând doar această frecvență fixă.

#### b) Intensitatea curentului electric sinusoidal

Efectele provocate de curentul electric sinusoidal au depins, într-o mare măsură, de intensitatea curentului (vezi înregistrările).

## 2. Factorii proprii cordului

Efectele observate au variat cu zona cardiacă pe care s-au aplicat electrozii de excitație. Zonele cele mai sensibile s-au dovedit a fi: sinusul venos (ganglionul lui Remak), septul interatrial (ganglionul lui Ludwig) și șanțul atrio-ventricular (ganglionul lui Bidder).

### I. Modificări electrocardiografice înregistrate în cazul în care curentul electric sinusoidal a fost aplicat la nivelul sinusului venos (ganglionul lui Remak)

În această situație s-au făcut următoarele observații:

1. Frecvența impulsurilor emise de nodul lui Remak a scăzut, atunci când intensitatea curentului sinusoidal a crescut (fig. 3, rîndul 2, 3, 4).
2. Dacă intensitatea curentului electric sinusoidal aplicat s-a menținut constantă, atunci și frecvența impulsurilor generate de ganglionul Remak s-a stabilit la un anumit nivel. Această stabilizare s-a realizat după o scurtă perioadă de acomodare (fig. 3, rîndul 2, 4).
3. Pentru o creștere treptată a intensității curentului electric sinusoidal, modificările de frecvență s-au produs numai atunci când au fost atinse anumite valori ale intensității curentului (pragului).
4. Se pare că anumite frecvențe cardiace sînt mai stabile și după o oscilație de tranziție, ritmul cardiac se fixează pe una din ele.
5. La o anumită intensitate a curentului electric sinusoidal, s-a produs blocarea ganglionului lui Remak și blocarea generală a cordului (fig. 4, rîndul 1 în dreapta).
6. După blocarea ganglionului lui Remak, s-a oprit curentul electric sinusoidal și activitatea ganglionului lui Remak a revenit după o pauză. În început, frecvența emisă de ganglion, a fost mică, dar a crescut treptat până a atins valoarea inițială (fig. 4, rîndul 2). Această reluare s-a produs astfel, încît distanța RR între două impulsuri emise succesiv a scăzut după o curbă de tip exponențial.

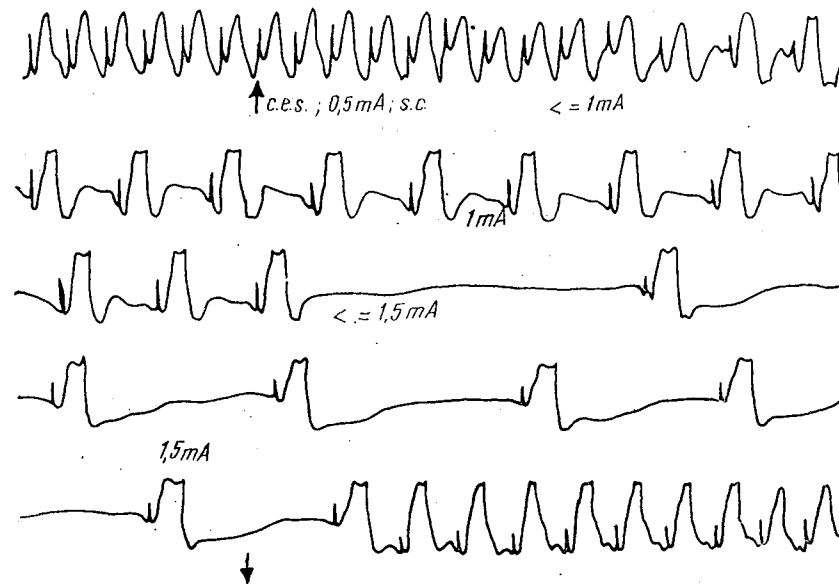


Fig. 3—E. C. G. la cordul de broască *in vivo*. Pe sinusul venos s-a aplicat un c.e.s. cu frecvența de 400 Hz și cu intensitatea de 0,5 mA, 1 mA, 1,5 mA; On, momentul aplicării c.e.s., Off, momentul opririi c.e.s.

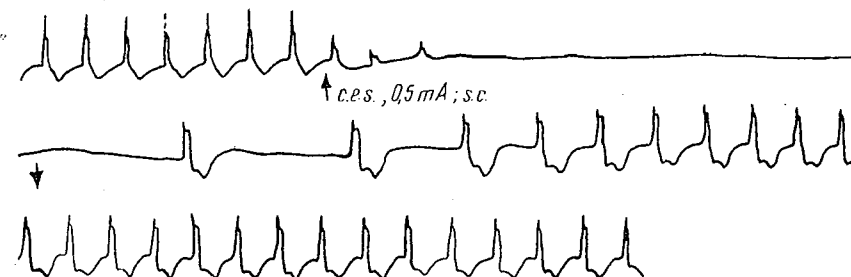


Fig. 4—E.C.G. la cordul de broască *in vivo*. Pe sinusul cavei s-a aplicat un c.e.s. cu frecvența de 400 Hz și cu intensitatea de 0,5 mA. [S-a produs o blocare cardiacă totală. La oprirea c.e.s. a apărut o perioadă de latență, după care ganglionul lui Remak și-a reluat activitatea.]

#### II. Modificări electrocardiografice înregistrate în cazul în care curentul electric sinusoidal a fost aplicat în vecinătatea interatrial (ganglionul lui Ludwig)

Prin aplicarea curentului electric sinusoidal pe atriile, în vecinătatea septului interatrial, s-au obținut aspecte electrocardiografice similare multor privințe celor descrise la punctul I. S-au produs însă și unele modificări specifice zonei atriale:

1. S-a realizat o blocare în transmiterea excitației, care a apărut la nivelul ganglionului lui Remak. În această situație, sinusul s-a contractat periodic, în continuare, în timp ce atriile și ventriculul au fost blocate (fig. 5, rândul 3 în dreapta).

2. Dacă, după ce s-a atins nivelul intensității curentului electric sinusoidal care a provocat blocarea conducerii de la ganglionul lui Remak la atriile și ventricul, s-a crescut, în continuare, intensitatea curentului electric, atunci, la un moment dat, a intrat în funcție ganglionul lui Bidder, cu o frecvență foarte rapidă (fig. 5, rândul în stânga).

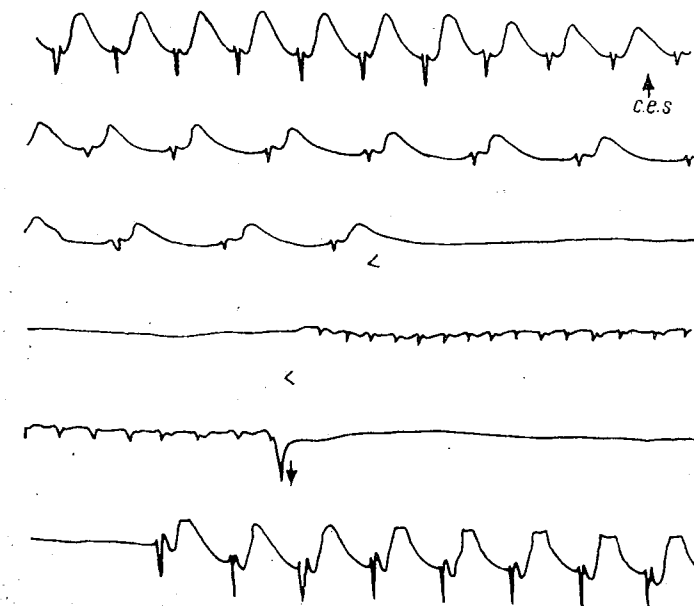


Fig. 5—E.C.G. la cordul de broască *in vivo*. În apropierea septului interatrial s-a aplicat un c.e.s. cu frecvența de 400 Hz și cu intensitatea crescândă. Rîndul 1: aspect de E.C.G. normal. Rîndul 2: după aplicarea c.e.s. (0,5 mA), frecvența impulsurilor generate de ganglionul lui Remak a scăzut. Rîndul 3: în dreapta, la creșterea intensității c.e.s. se produce blocarea transmiterii excitației spre ventricul. Rîndul 4, în dreapta: crescînd în continuare intensitatea c.e.s., intră în funcție ganglionul lui Bidder, cu o frecvență rapidă. Rîndul 5: la oprirea c.e.s., reapare blocarea ganglionului lui Bidder. Rîndul 6: conducerea excitabilității este reluată și ventriculul reintră direct pe ritmul generat de ganglionul lui Remak.

3. La oprirea c.e.s., ganglionul lui Bidder s-a blocat și după o pauză a reluat conducerea unei de excitație de la ganglionul lui Remak la atriile și ventricul (fig. 5, rândul 5, 6). Ca urmare, atriile și ventriculul au reintrat direct pe frecvența generată de ganglionul lui Remak. În această situație nu s-a mai realizat o perioadă de tranziție, în care distanța (între două sistole succesive) să scadă exponențial. Uneori, la început, a apărut câte o bătaie scăpată (netransmisă), prin faptul că, conducerea în atriile a avut o perioadă refractară mai lungă decît intervalul dintre două impulsuri succesive emise de ganglionul lui Remak (fig. 6, rîndul 3).

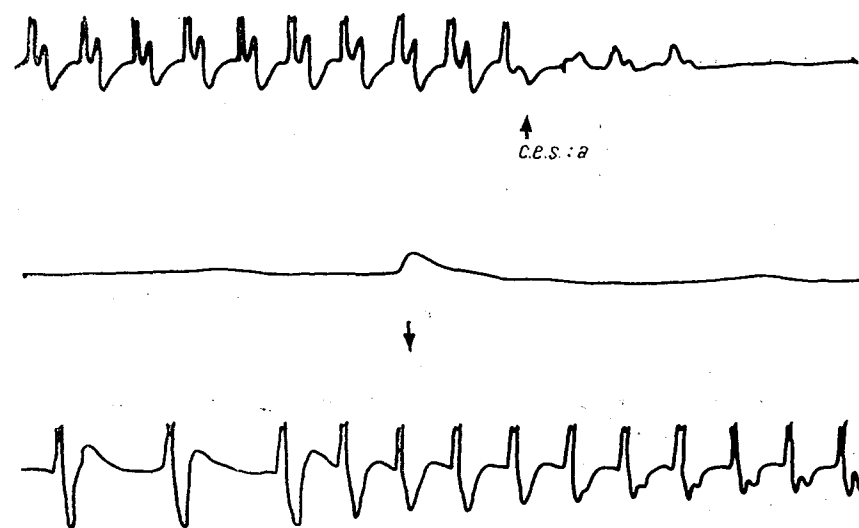


Fig. 6 — E.C.G. la cordul de broască *in vivo*. S-a aplicat un c.e.s. în vecinătatea septului interatrial. S-a produs blocarea transmiterii excitației spre ventricul. La oprirea c.e.s., după o pauză, s-a reluat conducerea excitației. În rindul 3, se observă 2 bătăi scăpate (pauza dintre impulsul 1—2 și 2—3 este dublă distanței RR obișnuite).

#### III. Modificări electrocardiografice înregistrate în cazul în care curentul electric sinusoidal a fost aplicat în vecinătatea șanțului atrio-ventricular (ganglionul lui Bidder)

1. În această situație, prin creșterea intensității curentului electric sinusoidal, s-a obținut o blocare a conducerii excitației de la atrii la ventricul.
2. La o creștere în continuare a intensității curentului electric sinusoidal, la un anumit nivel (prag), a intrat în funcție, cu o frecvență mare, ganglionul lui Bidder.
3. La întreruperea curentului electric sinusoidal, s-a oprit funcționarea ganglionului lui Bidder și după o pauză variabilă s-a reluat conducerea excitațiilor de la atrii la ventricul. Ventriculul a intrat direct, fără o perioadă de tranziție, pe frecvența impulsurilor emise de ganglionul lui Remak.

#### IV. Modificări electrocardiografice înregistrate în cazul în care curentul electric sinusoidal a fost aplicat pe ventricul

Rezultatele experimentale au arătat că ventriculul prezintă o sensibilitate mai mică la acțiunea curentului electric sinusoidal, comparativ cu zonele de amplasare ale ganglionilor cardiaci. Astfel, pentru intensități mici ale curenților electrici sinusoidali, de ordinul a 0,5 mA și chiar 1 mA, nu s-au produs modificări de ritm ventricular.

Pentru intensități mai mari ale curentului electric sinusoidal, de ordinul a 2,5 mA, s-a realizat fie o blocare a activității ventriculare, fie apariția mai multor zone de excitație și contracție, asincrone, pe ventricul. La încetarea acțiunii curentului electric sinusoidal, zonele de excitație și contracție asincrone de pe ventricul au mai persistat un timp, după care s-a refăcut sincronizarea cardiacă pe impulsurile sosite de la ganglionul lui Remak.

Cu ocazia aplicării curentului electric sinusoidal pe diferite zone ale cordului, s-au observat și modificări în amplitudinea, forma și intervalele undelor electrocardiografice. Sub influența curentului electric sinusoidal s-a produs o scădere a amplitudinii deflexiunilor, o lărgire a undelor și o alungire a intervalelor dintre undele electrocardiografice. Observațiile noastre s-au centrat mai ales pe modificările de frecvență, pentru că acestea au putut fi mai net obiectivizate.

#### DISCUȚII

Curenții electrici sinusoidali cu frecvența de 400 Hz au produs modificările în ritmul cardiac, prin acțiunea lor asupra centrilor autonomi ai cordului. Pentru aceasta, pledează următoarele argumente:

1. Automatismul cardiac este întreținut de acțiunea centrilor autonomi (în mod normal de ganglionul lui Remak);
2. Frecvența curenților electrici utilizați (400 Hz) a depășit capacitatea de urmărire a fibrelor musculare miocardice. Se știe că fibra musculară cardiacă este caracterizată printr-o perioadă refractară lungă. În consecință, modificările în frecvența cordului nu sînt o consecință a acțiunii c.e.s. direct asupra musculaturii cardiace;
3. Modificările de frecvență cardiacă nu se datorează unei intervenții prin intermediul plexurilor neurovegetative, pentru că potențialele de acțiune nervoase sînt mult mai puțin importante decît acțiunea electrică directă exercitată de curentul electric sinusoidal la nivelul ganglionului testat.

Celulele dintr-un ganglion cardiac sînt caracterizate prin trei valori de potențial electric:

- 1) potențial de repaus;
- 2) potențialul prag de aprindere;
- 3) potențial de acțiune (fig. 7).

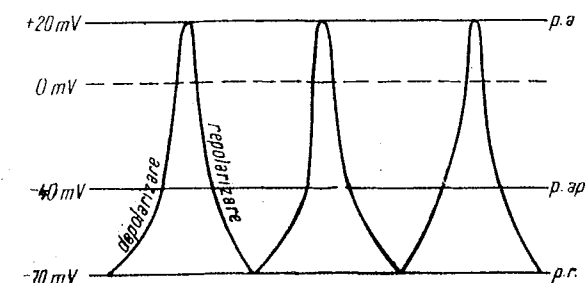


Fig. 7 — Potențialele de acțiune produse de celulele unui generator de impulsuri cardiac (pace-maker, de exemplu, ganglionul lui Remak); p.r., potențialul de repaus, p. ap., potențialul prag de aprindere, p.a., potențialul de acțiune.



De la valoarea potențialului lor de repaus de aproximativ  $-70\text{mV}$ , celulele ganglionare își modifică permeabilitatea membranei pentru ioni de sodiu și se depolarizează spontan pînă în valoarea pragului lor de aprindere (circa  $-40\text{mV}$ ). Atunci se declanșează automat generarea potențialului de acțiune. Urmează refacerea potențialului de repaus, după care ciclul se reia pentru a produce noi impulsuri. Frecvența impulsurilor generate depinde de diferența dintre valorile potențialului de repaus și pragul de aprindere, și de viteza proceselor de depolarizare și repolarizare (constantele lor de timp).

Curentul electric sinusoidal intervine atît la nivelul potențialului de repaus, cît mai ales la nivelul proceselor de depolarizare și repolarizare. La nivelul potențialului de repaus el produce depolarizarea (4), (5), deci apropierea potențialului de repaus de pragul de aprindere, ceea ce poate favoriza uneori o creștere a frecvenței impulsurilor generate. Dacă nivelul potențialului de repaus atinge valoarea pragului de aprindere, atunci se produce blocarea generatorului. Intervenția curentului electric sinusoidal asupra proceselor de depolarizare și repolarizare este, probabil, și mai importantă și este legată de o creștere a permeabilității membranei celulare și o perturbare a transportului ionic activ prin membrană. Ca rezultat al acestor acțiuni cresc constantele de depolarizare și repolarizare. Acest lucru este demonstrat de creșterea duratelor undelor, precum și a intervalelor dintre undele ECG, sub influența c.e.s. Ca o consecință se produce o micșorare a frecvenței centrului emițător, și într-un caz-limită apare blocarea generatorului de impulsuri.

Acste date și considerații pot explica, într-un mod suficient, modificările observate prin aplicarea unor intensități crescînde de curent electric sinusoidal, la nivelul ganglionului lui Remak (rărirea și blocarea).

Pentru a înțelege intrarea bruscă în funcție a ganglionului lui Bidder, pe o frecvență rapidă, în momentul în care intensitatea curentului electric sinusoidal a atins un anumit nivel critic (prag), este nevoie să se țină seama de rolul inhibitor al ganglionului lui Ludwig. În acest caz curentul electric sinusoidal blochează mai întîi funcția inhibitoare a ganglionului lui Ludwig și eliberează, ca o consecință, activitatea ganglionului lui Bidder. La oprirea curentului electric sinusoidal, reapare, întîi, funcția inhibitoare a ganglionului lui Ludwig și ca o urmare blocarea ganglionului lui Bidder, apoi e reluată activitatea cordului pe ritmul generat de ganglionul lui Remak.

Mai dificil de explicat este faptul că, sub acțiunea curentului electric sinusoidal, ganglionul lui Bidder intră în funcție cu o frecvență mult mai rapidă decît cea obișnuită ganglionului lui Remak și diferită de cea produsă tot de ganglionul lui Bidder în cazul ligaturii Stannius III. S-ar putea ca modificarea să fie în acest caz la nivelul ganglionului lui Ludwig, care își schimbă, la un anumit nivel de polarizare, rolul său inhibitor, pentru un rol excitator. O altă posibilitate ar putea fi producerea, sub influența curentului electric sinusoidal, a unor modificări la nivelul celulelor ganglionului lui Bidder, care ar avea drept consecință o creștere a frecvenței generate de ganglion. O asemenea modificare ar putea consta într-o apropiere a nivelului potențialului de repaus, de pragul de aprindere.

## CONCLUZII

Din datele experimentale prezentate, se degajează concluzia că, sub influența c.e.s. se produc modificări de amplitudine, durată și frecvență a undelor electrocardiografice. Mecanismul acestor modificări constă, probabil, într-o creștere a constantelor de timp în fenomenele de depolarizare și repolarizare celulară, și în micșorarea potențialului celular de repaus. Schimbările de frecvență devin mai evidente în cazul, în care acțiunea c.e.s. se desfășoară la nivelul ganglionului lui Remak, Ludwig sau Bidder. Acești trei ganglioni realizează o schemă cibernetică cu trei elemente: 1. ganglionul lui Remak, care este emițătorul normal de impulsuri electrice de excitație ale cordului; 2. ganglionul lui Ludwig, care inhibă în mod normal activitatea ganglionului lui Bidder, și 3. ganglionul lui Bidder, care este un emițător, potențial de impulsuri. Sub acțiunea c.e.s. se realizează micșorarea frecvenței emise de ganglionul lui Remak, blocarea activității ganglionului lui Remak și intrarea în funcție a ganglionului lui Bidder.

(Avizat de prof. V. Vasilescu.)

## ACTION OF THE SINUSOIDAL ELECTRIC CURRENT OF 400 HZ FREQUENCY ON THE FROG HEART

## SUMMARY

The action of the sinusoidal electric current on the frog heart was followed up *in vivo* and the electrocardiographic changes recorded were taken as evaluation criteria.

Initial tests showed that the modifications induced under the influence of the sinusoidal electric current depend on the current frequency and intensity, as well as on the heart area directly concerned. In further experiments a sinusoidal electric current of 400 Hz frequency was used which was applied on the following heart areas: the venous sinus (for Remak's ganglion), inter-atrial septum (for Ludwig's ganglion) and atrium-ventricular groove (for Bidder's ganglion).

At the level of the venous sinus, an increase in the intensity of the sinusoidal electric current induced a diminution in the frequency of the electric pulses evoked by Remak's ganglion. This diminution of the frequency was all the more significant as the intensity of the sinusoidal electric current was higher. At a certain intensity threshold of the current applied, the function of Remak's ganglion was blocked. When the sinusoidal electric current was switched off, Remak's ganglion gradually resumed its activity after a latency period and the frequency of the pulses in which the distance RR (between 2 successive heartbeats) decreased exponentially to the initial value.

At the level of the inter-atrial septum and atrium-ventricular groove, the sinusoidal electric current checked the excitability of the heart from

Remak's ganglion to the ventricle. At a certain intensity of the sinusoidal electric current, Bidder's ganglion was set working at a very fast rhythm.

The effects observed under the influence of the sinusoidal electric current were accounted for by an increase of the depolarization and repolarization constants and a diminution of the cell resting potential.

## BIBLIOGRAFIE

1. BEST C. H., TAYLOR N. B., 1958, *Bazele fiziologice ale practicii medicale*. Ed. medicală, București.
2. CHIODI V., BORTOLAMI R., 1966, *The Conducting System of the vertebrates Heart*. Ed. Calderini, Bologna.
3. DUBOIS R., COUVREUR E., 1900, *Leçons de physiologie expérimentale*. Paris.
4. NAITOH YUTAKA, ECHART R., 1969, *Science*, **166**, 3913, 1633.
5. PORTELLI C., 1972, *Rev. roum. biol.-Zool.*, **17**, 1.
6. STROHL A., 1963, *Précis de Physique Médicale*, Ed. Masson, Paris.

Facultatea de medicină  
București, Bul. Dr. Petru Groza nr. 9

Primit în redacție la 25 februarie 1972.

OBSERVAȚII PRIVIND CAPACITATEA DE ACUMULARE  
A  $^{57}\text{Co}$  DE CĂTRE *ANODONTA PISCINALIS* ÎN CONDIȚII  
DE LABORATOR

DE

CLAUDIU TUDORANCEA, VIOREL DOBRESCU, GIL FURNICĂ, ELISABETA  
DOBRESCU și I. DIACONU

The accumulation capacity of  $^{57}\text{Co}$  by *Anodonta piscinalis* in experimental conditions on sandy underlayer or without it, is discussed. The experiments pointed out that this species can be a good indicator of the  $^{57}\text{Co}$  presence in waters, this isotope being accumulated in higher amounts mainly in valves, gills and viscera.

Una din tendințele actuale ale cercetării biologice pe plan mondial este aceea a cunoașterii circulației radionuclizilor prin verigile lanțurilor trofice din ecosistem, a capacității de acumulare a acestora de către diferite specii, și în legătură cu aceasta găsirea unor măsuri de protecție a mediului și a sănătății omului.

Deși pe plan mondial asemenea studii de radioecologie s-au dezvoltat în ultimele două decenii, în țara noastră ele sînt abia la început și trebuie să constituie una din preocupările majore ale ecologilor, ținînd seama de tendințele de dezvoltare industrială a țării. Menționăm în această direcție cercetările efectuate de Pora și colab. asupra acumulării și eliminării  $^{32}\text{P}$  la unii pești și la cîteva organisme marine (6), (7) și cercetările efectuate de Adriana Iorgulescu și colab. (1965) privind înmagazinarea radioactivității  $\beta$  globale și identificarea radionuclizilor care o produc la planctonul Mării Negre (5).

În lanțurile trofice ale apelor dulci și marine, moluștele reprezintă verigi importante în transferul de materie și energie. În același timp ele reprezintă și o importanță economică prin faptul că unele specii au valoare comercială fiind comestibile, alte specii sînt folosite în industria obiectelor

ST. ȘI CERC. BIOL. SERIA ZOOLOGIE T. 25 NR. 3 P. 281-287 BUCUREȘTI, 1973

6 - c. 2800

de sidef, iar altele sînt gazde intermediare pentru unii paraziți care produc boli la animale domestice și chiar la om.

În nota de față prezentăm cîteva date preliminare asupra capacității de înmagazinare a  $^{57}\text{Co}$  de către *Anodonta piscinalis*, una din speciile dominante în multe biocenoze acvatice din țara noastră.

#### MATERIAL ȘI METODĂ DE LUCRU

Experimentele s-au făcut pe 2 loturi de cîte 7 indivizi de *Anodonta piscinalis* colectate din pîrlul Dilga (afluent al Oltului), folosind pentru contaminare  $^{57}\text{Co}$ . Am folosit cobaltul radioactiv, deoarece, în general el înlocuiește Fe în diverse combinații chimice, este asimilat în cantități măsurabile de către unionide (9), iar izotopul  $^{57}\text{Co}$  are o perioadă relativ lungă de înjumătățire (2).

Au fost efectuate două experiențe, în condiții diferite: în primul experiment scoicile au fost puse în vase de 5 l cu apă fără substrat; în al doilea experiment scoicile au fost puse de asemenea în vase de 5 l dar pe un substrat nisipos. Fiecare experiment a durat 15 zile, desfășurîndu-se în cîte două variante: într-o variantă (2 vase) scoicile au stat în apă de izvor lipsită de plancton dar contaminată cu  $^{57}\text{Co}$ , iar în cealaltă variantă (2 vase) scoicilor li s-a administrat ca hrană o cultură de alge (*Scenedesmus* sp.), contaminate în prealabil cu  $^{57}\text{Co}$ .

După fiecare experiment scoicile au fost sacrificate și din fiecare exemplar s-a luat o cantitate de țesut (din branhiile, manta, viscere, picior), care a fost cîntărită la o balanță analitică după care s-a determinat radioactivitatea. S-a determinat de asemenea radioactivitatea întregii cochilii bivalve. Apoi s-a determinat cantitatea de  $^{57}\text{Co}$  rămasă în apă și cea acumulată în substratul nisipos.

Pentru o mai bună comparație în ce privește capacitatea de acumulare a  $^{57}\text{Co}$  de către diferiți indivizi și de către diferitele categorii de țesuturi, am calculat coeficientul de acumulare (CA\*) în sensul utilizat de Polikarov (1960). Pentru coeficientul de acumulare s-a calculat media aritmetică ( $\bar{x}$ ) și eroarea medie a mediei aritmetice ( $S_{\bar{x}}$ ), după formula (4)

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n(n-1)}}$$

#### REZULTATELE OBTINUTE ȘI DISCUTAREA LOR

Analizînd datele din tabelul nr. 1 se constată că scoicile, ținute în apă puternic contaminată cu  $^{57}\text{Co}$  (101–232 pCi/ml) dar fără un substrat nisipos, manifestă o intensă activitate de înmagazinare a radionuclidului. Cea mai mare cantitate este reținută de valve, apoi de branhiile și viscere, urmate în ordine de manta și picior. Valvele fiind organe inerte, valorile mai mari ale cantității de  $^{57}\text{Co}$  acumulat și a coeficientului de acumulare se datorează probabil fenomenului de adsorbție.

$$\text{* Coeficient de acumulare} = \frac{\text{activitatea unui gram de țesut}}{\text{activitatea unui ml apă}}$$

Comparînd datele noastre cu cele obținute de Ravera (1964) (8) la *Unio mancus* și *Anodonta* sp., în condiții de apă contaminată cu  $^{54}\text{Mn}$ , se constată că valorile din experimentele noastre sînt mult mai mari (de ordinul a zeci de mii sau milioane de pCi/kg față de valorile de ordinul sutelor de pCi/kg obținute de autorul citat). Diferențele provin probabil pe de o parte, din capacitatea unionidelor de a acumula diferit feluri de radionuclizi, iar pe de altă parte și din cauza concentrației diferite în care aceștia se găsesc în mediul moluștelor.

Măsurînd la sfîrșitul acestui experiment concentrația de  $^{57}\text{Co}$  rămasă în apa în care au stat scoicile, am constatat că aceasta a fost de 22,1 pCi/ml în vasul în care radioactivitatea introdusă a fost de 232 pCi/ml și de 10,2 pCi/ml în vasul în care activitatea introdusă a fost de 101 pCi/ml. Aceasta înseamnă că scoicile au înmagazinat aproximativ 90% din cantitatea de radionuclid introdusă, ceea ce arată o foarte mare capacitate de acumulare a  $^{57}\text{Co}$ .

Dacă se compară modul cum a fost acumulat  $^{57}\text{Co}$  de către scoici în cele două variante ale experimentului, apă cu alge și apă fără alge, se constată că valorile absolute sînt în general mai mari la exemplarele care au stat în apă contaminată fără alge (cu excepția mantalei și a piciorului). Acest lucru considerăm că se datorește în bună parte faptului că în vasele cu apă fără alge a fost introdusă o cantitate mai mare de radionuclid (232 și, respectiv, 230 pCi/ml), în timp ce în vasele cu apă conținînd alge contaminate, concentrația izotopului a fost mai mică (101 și, respectiv, 121 pCi/ml).

Urmărind însă coeficientul de acumulare la cele două grupe de scoici (fig. 1), constatăm că cele care au beneficiat de hrană, deși concentrația radionuclidului a fost mai scăzută în vasele respective, au un coeficient de acumulare mai mare decît cele care au stat în apă contaminată fără

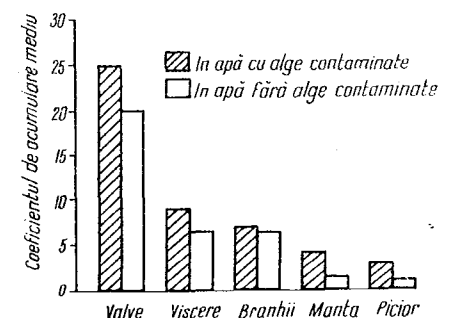


Fig. 1 — Variația coeficientului de acumulare a  $^{57}\text{Co}$  de către *A. piscinalis* în apă fără substrat nisipos.

alge. Acest lucru apare firește, deoarece consumînd algele contaminate, au asimilat și radioactivitatea corespunzătoare. Ceea ce apare interesant este faptul că și în condiții de apă contaminată fără hrană, scoicile au înmagazinat o cantitate mare de izotop, mai ales în branhiile și viscere. Acest lucru confirmă și pe această cale ideea că moluștele unionide filtrează o cantitate mare de apă chiar atunci cînd ea este săracă în hrană. După cum arată unele date experimentale (1), în asemenea condiții scoicile filtrează o cantitate mai mare de apă decît atunci cînd stau în apă bogată în hrană.

Tab. 1  
Acumularea  $^{57}\text{Co}$  de către *A. piscinalis* în apa fără substrat nisipos (pentru coeficientul de acumulare s-a

Condițiile	Nr. exempl.	Limitele lungimii scoicilor (mm)	Valve pCi/g CA	Branhii pCi/g CA
Apă contaminată fără alge	4	62—89	4627,6 20,0 ± 4,4	1358,7 5,86 ± 2,9
Apă cu alge contaminate	3	60—87	2762,3 24,6 ± 6,0	627,9 5,89 ± 3,6

În experimentul al doilea când scoicile au fost puse pe un substrat nisipos, s-a constatat, ca și în primul experiment, că valvele au în general coeficientul de acumulare cel mai mare urmate în ordine de branhiile, viscere și picior (nu s-a determinat radioactivitatea mantalei) (tab. nr. 2).

Tab. 2  
Acumularea  $^{57}\text{Co}$  de către *A. piscinalis* în condiții de substrat nisipos (pentru coeficientul

Condiții	Vasul	Activitatea totală introdusă pCi/g	Nr. exempl.	Lungimea scoicilor (mm)	Valve pCi/g CA
Apă contaminată fără alge	1	80 100	2	67	169,5 10,53 ± 1,7
	2	158 385	2	72	339,5 10,71 ± 2,2
				102	
				110	
Apă cu alge contaminate	3	79 750	1	68,6	51,0 3,19—
	4	156 759	2	100	85,0 2,71 ± 0,5
				110	

Dacă se compară valorile cantității de radionuclid acumulat în cele două experimente, se constată că valorile deținute în condiții de substrat nisipos sînt mai mici decît cele din primul experiment. Acest lucru poate fi datorit, pe de o parte, faptului că în vasele din al doilea experiment a fost introdusă o radioactivitate mai mică (16,02; 15,95; 31,36 și, respectiv, 31,67 pCi/ml), iar pe de altă parte faptului că nisipul a reprezentat un important element de acumulare.

Urmărind ca și în primul caz radioactivitatea rămasă în apa din vasele de experiență, cît și a nisipului, am putut să apreciem capacitatea de acumulare de către scoici și puterea de reținere a izotopului de către substrat. Cunoșcînd cantitatea de nisip introdusă în vasele 2 și 4 și luînd în considerație datele obținute de Furnică și colab.\*, cu privire la modul cum este reținută radioactivitatea de către straturile de nisip (0—1,5 cm, 60%; 1,5—2,5 cm 25%; 2,5—3 cm 15%), am calculat activitatea totală reținută de substrat.

\* Furnică Gh., Dobrescu E., Bulan Șt., 1972, Simpozionul V de igienă a radiațiilor (Comunicare).

Tab. 1  
calculat și eroarea medie a mediei aritmetice  $\bar{Sx}$ )

Viscere pCi/g CA	Manta pCi/g CA	Picior pCi/g CA
1323,4 5,57 ± 5,3	127,4 0,55 ± 0,3	60,4 0,26 ± 0,1
883,5 7,80 ± 2,2	329,6 22,9 ± 0,9	254 2,29 ± 0,6

Analizînd valorile obținute în cele două variante ale experimentului (tab. nr. 2), constatăm că în varianta apă contaminată fără alge (vasul 2) nisipul a reținut 88,20% din activitatea introdusă, scoicile au acumulat 6,64%, iar în apă a rămas 5,16%. În varianta apă cu alge conta-

Tab. 2  
de acumulare (CA) s-a calculat și eroarea medie a mediei aritmetice  $\bar{Sx}$ )

Branhii pCi/g CA	Viscere pCi/g CA	Picior pCi/g CA	Activitate masă apă (pCi/g)	Activitate rămasă în substrat (pCi)
124,4 7,76 ± 1,1	27,66 1,72 ± 1,6			
60,1 1,89 ± 0,2	11,7 0,37 ± 0,2	— —	8180	139 705
174,4 11,06 —	40,6 2,54 —	— —	—	—
16,2 0,51 ± 0,4	18,60 0,59 ± 0,5	22,5 0,4 ± 0,4	6525	40 347

minat (vasul 4) nisipul a reținut 25,73% din activitatea introdusă, apa a reținut 4,16% ceea ce înseamnă că scoicile au acumulat 70,10%.

Din tabelul nr. 2 se constată de asemenea că în ambele variante ale experimentului scoicile de dimensiuni mai mici au un coeficient de acumulare mai mare decît cele de dimensiuni mai mari, ceea ce arată că intensitatea acumulării radionuclizilor este în legătură directă cu intensitatea procesului de filtrare, care este mai mare la indivizii tineri (1), (10).

Reprezentînd grafic valorile medii ale coeficientului de acumulare a  $^{57}\text{Co}$  de către scoicile din fiecare variantă (fig. 2), se constată că atât branhiile, cît și viscerele au un coeficient de acumulare apropiat, ca de altfel și în cazul variantelor primului experiment.

După cum reiese din datele discutate, indivizii de *Anodonta piscinalis* pot acumula  $^{57}\text{Co}$  în cantități mari ceea ce arată că specia este un bun indicator și înmagazinător al acestui radionuclid existent în reziduurile radioactive deversate în ape. Aspectul negativ al acestei proprietăți a scoicilor constă în aceea că juvenalii de unionide fiind consumați de unii pești, izotopul acumulat poate deveni periculos pentru sănătatea omului avîndu-se în vedere perioada lui de înjumătățire relativ



lungă. Pericolul pentru om se poate manifesta și pe alte căi, și anume: fie pe calea consumului moluștelor de către porci, așa cum se întâmplă în bălțile zonei inundabile a Dunării (3), fie prin intermediul unor mamifere acvatice a căror blană este apreciată (bizani și vidră) care se hrănesc și cu scoici, așa cum am constatat în ghiolurile din Delta Dunării.

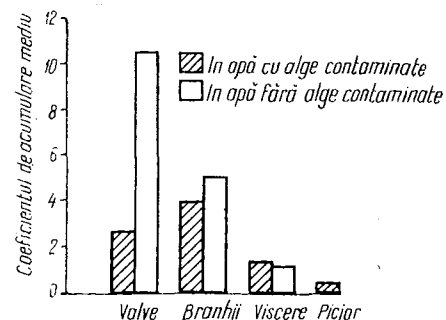


Fig. 2 — Variația coeficientului de acumulare a <sup>57</sup>Co de către A. piscinalis în condiții de substrat nisipos.

#### CONCLUZII

*Anodonta piscinalis* poate fi un bun indicator al prezenței <sup>57</sup>Co în ape, pe care îl înmagazinează în concentrație mare în diferite organe. Indiferent de cantitatea hranei lor în apă, scoicile acumulează radionuclidul în însăși procesul filtrării apei.

Coeficientul de acumulare cel mai mare pentru <sup>57</sup>Co îl au valvele (probabil prin adsorbție), urmate în ordine de branhiile, viscerele, manta și picior.

Deși unionidele fac parte din lanțuri trofice scurte, acumularea de către ele a <sup>57</sup>Co poate deveni dăunătoare sănătății omului pe diverse căi.

(Avizat de prof. N. Botnariuc.)

#### CONSIDERATION ABOUT THE ACCUMULATING CAPACITY OF <sup>57</sup>Co BY ANODONTA PISCINALIS IN LABORATORY CONDITIONS

#### SUMMARY

Two experiments were performed in order to test the accumulating capacity of <sup>57</sup>Co by *Anodonta piscinalis* (the material was collected in the river Dîlga of the Olt river basin). Two variants were tried: (1) water without a sandy underlayer, with algae or free of them; (2) water with a sandy underlayer, with algae or free of them.

In the food variants the shells received a diet of *Scenedesmus* sp., which were beforehand contaminated by <sup>57</sup>Co.

It was found that valves have the highest <sup>57</sup>Co accumulation coefficient (probably by adsorption), followed in order by the gills, the viscera, the mantle and the foot.

Regardless to the amount of algae which are present in water, the shells are accumulating the radionuclide during the process of water filtration. *Anodonta piscinalis* seems to be a good indicator of the <sup>57</sup>Co presence in water, accumulating it in higher concentrations within various organs. Although the Unionids belong to short trophic chains, the accumulation by them of <sup>57</sup>Co, an isotope with a fairly long half-life (270 days) may become noxious to human beings by different ways (through fishes consuming young Unionidae, or pigs eating shells in the easily flooded Danube area, or some water mammals with a valuable fur which are feeding on shells (e.g. the mink and the otter).

#### BIBLIOGRAFIE

1. ALIMOV F. A., 1967, *Molluski i ih roli v biofenezah i formirovanii faun*. Izd. „Nauka”, Leningrad, 305—311.
2. BAPTIST J. P., HOSS D. E., LEWIS C. W., 1970, *Health Physics*, **18**, 141—148.
3. BOTNARIUC N., NEGREA A., TUDORANCEA CL., 1964, *Hidrobiologia*, **5**, 95—104.
4. CEAPOIU N., 1968, *Metode statistice aplicate în experiențele agricole și biologice*, Edit. agro-silvică, București.
5. IORGULESCU A., ONCESCU M., ȘERBĂNESCU O., PORUMB F., 1965, *St. și cerc. biol., Seria zoologie*, **17**, 6, 571—577.
6. PORA A. E., OROS I., RUȘDEA D., STOICOVICI FL., WITTENBEDLER C., 1961, *St. și cerc. biol., Cluj*, **12**, 2, 293—326.
7. PORA A. E., PRECUP O., OROS I., 1961, *Studia Univ. „Babeș-Bolyai, ser. II, 1*, 235—256.
8. RAVERA O., 1964, *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **15**, 885—892.
9. RAVERA O., MERLINI M., MUSSO S., 1969, *Giornale Di Fisica Sanitaria E Protezione Contro Le Radiazioni*, **13**, 4, 301—305.
10. TUDORANCEA CL., 1970, *Studiul populațiilor de Unionidae din complexul de bălți Crapina-Jijila (zona inundabilă a Dunării)*, (teză de doctorat), București.
11. VLADEK S., 1963, *Rapport CLOR-26*, Varșovia, 1—15.

Facultatea de biologie  
Laboratorul de ecologie și biologie generală  
București 35, Splaiul Independenței 91—95

Primit în redacție la 30 ianuarie 1973.

## UN NOU TIP DE INSTALAȚIE EXPERIMENTALĂ PENTRU STUDIAREA FORMICIDELOR CU UNUL SAU MAI MULTE CUIBURI

DE

DINU PARASCHIVESCU

An experimental device with several nests, for ecological and ethological experiments on ant-species constructing their nest in the soil is described. This experimental device permits a simultaneous investigation of the nutrition, of the nest-building, of the intra- and interspecific relations as well as other biological aspects in one to three ant-species.

Cercetarea speciilor de furnici care își construiesc cuibul în sol prezintă un interes deosebit, datorită rolului lor în aerisirea solului. Unele specii sînt dăunătoare agriculturii prin nutriția lor granivoră, în schimb altele prin înmulțirea lor artificială în natură pot contribui la combaterea gîndacului de Colorado — dăunător al cartofului.

Pentru o valorificare economică eficientă a acestor specii de furnici folosite în agricultură, este necesar ca acestea să fie experimentate în prealabil în laborator, în instalații special amenajate — cuiburi artificiale.

În literatura de specialitate există date asupra speciilor de furnici care au fost experimentate în laborator fiind întreținute în diverse cuiburi de mărimi și forme variabile care sînt construite din diferite materiale (ghips, lemn, sticlă).

Aceste cuiburi s-au construit pentru anumite specii, avînd posibilitatea de a cerceta unele aspecte de comportament a acestora.

Există cuiburi mici ca mărime de exemplu, tipul Janet (7) de formă dreptunghiulară și construit din ghips avînd dimensiunile 15 cm lungime, 12 cm lățime și 2,5 cm înălțime, acoperit de o placă de sticlă de aceleași dimensiuni.

Alte cuiburi sînt de formă verticală, construite din sticlă (13), (15) sau lemn (3), iar altele pot atinge dimensiuni mai mari (15).

Dintre cuiburile descrise în literatura de specialitate menționăm pe cele experimentate de Viehmeyer (14), Meyer (10), Brun (2), Emery (4), Goetsch (6), Barth (1), Fielde (5), Lubbock (9), Molitor (11), Eidmann (3), Wassman (15), Schmith (13), Wheeler (16), Kutter (8). Ideea care a stat la baza tipului de construcție a cuibului conceput de noi a fost de a se adapta cît mai exact posibil forma instalației la condițiile lor din natură. Pentru aceasta s-a amplasat arena cuibului deasupra casetei (cuibul propriu-zis) în așa fel încît furnicile lucrătoare să aibă posibilitatea să-și construiască cuibul ca și în natură, tot pe verticală (fig. 1 și 2).

Instalația noastră oferă posibilitatea de a se urmări întreaga activitate a furnicilor din arenă pe plan orizontal, cît și din încăperile cuibului pe plan vertical datorită transparenței pereților de sticlă. Instalația este construită din stiplex, sticlă, sită metalică și ghips.

În astfel de cuiburi artificiale se pot face cercetări complexe (12), de exemplu:

a) cercetarea modului de construcție a cuibului simultan la trei specii de furnici (fig. 3);

b) cercetări privind nutriția (granivoră), carnivoră) concomitent la trei specii (fig. 4 a, b);

c) cercetarea relațiilor inter- și intraspecifice;

d) cercetări etologice prin marcarea furnicilor lucrătoare care aparțin aceleiași specii (fig. 5); studierea în paralel a trei specii diferite în cele trei cuiburi. Influența umidității asupra camerelor cu ouă, larve sau cu depozitele de hrană (fig. 6);

e) cercetarea unor aspecte biologice (dezvoltarea speciilor respective) (fig. 7).

#### DATELE TEHNICE ALE INSTALAȚIEI

Instalația se compune din două părți distincte:

1) arena cuibului;

2) caseta cuibului (în număr de 3) (fig. 8).

1. Arena cuibului are următoarele dimensiuni: 1,05/0,68 m și este lateral înconjurată de un șanț de apă. Pentru economisirea stiplexului peretele canalului de apă exterior este fixat de peretele arenei, formînd un unghi.

În arenă se află trei pereți despărțitori pentru deschiderile celor trei cuiburi (casete) care sînt fixate la arenă în partea de jos în poziție verticală.

2. Casețele pot fi de dimensiuni egale sau inegale (fie toate casețele cu o lățime egală de 0,30 m sau două casete late de 0,30 m și una de 0,50 m). Înălțimea în ambele cazuri, egală, de 0,35 m. De asemenea și grosimea secțiunii dintre cei doi pereți de sticlă este necesar a fi constantă, de 0,6 mm pentru a avea vizibilitate bună asupra activității furnicilor în cuiburi (casete) care se obțin datorită transparenței pereților de sticlă.

Părțile laterale ale casetelor din sticlă sînt prevăzute cu cîte 5 orificii de 0,5 mm în diametru prevăzute cu sită pentru aerisirea încăperilor cuibului propriu-zis.

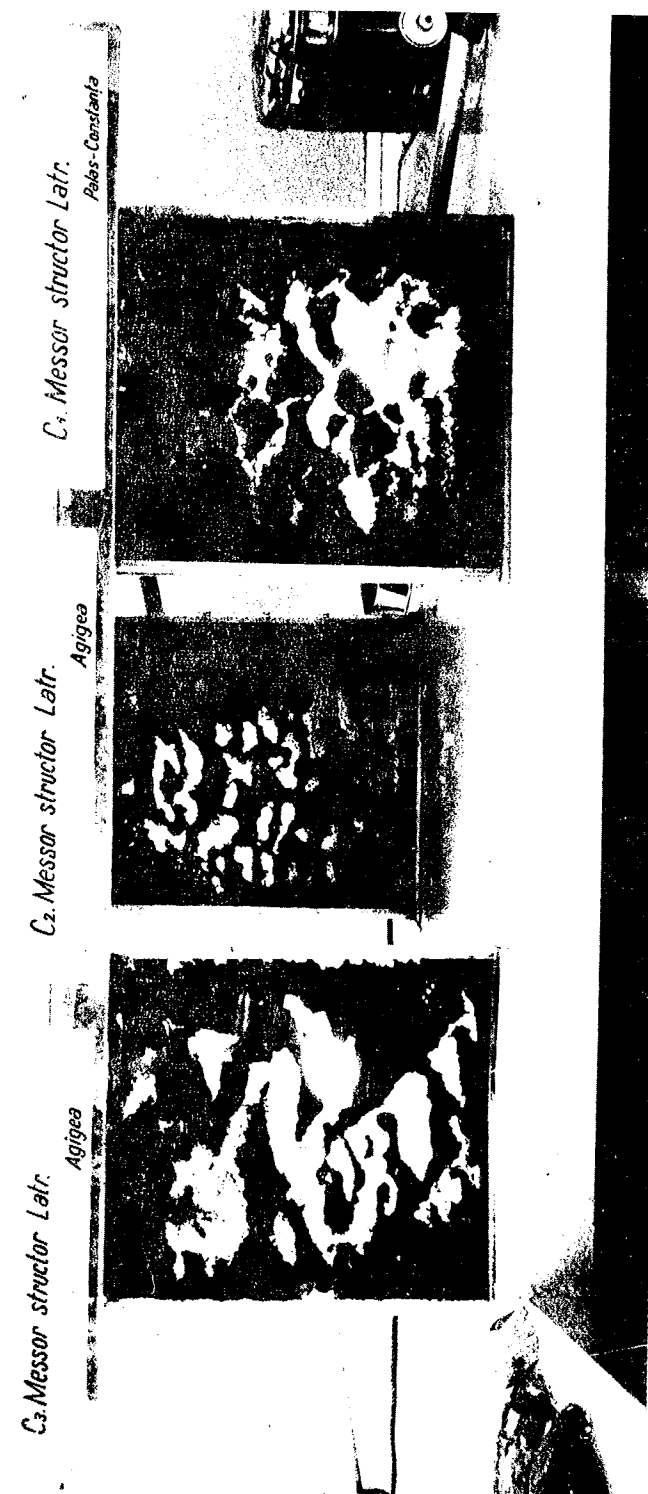


Fig. 1 — Cuibul experimental văzut din profil.



Fig. 2 — Arena cuibului experimental.

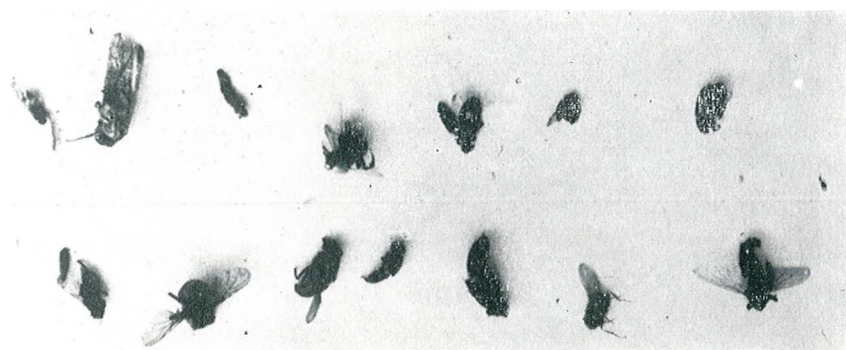


Fig. 3 — Construcția cuibului într-una din casetele cuibului *Messor structor* Latr.





a



b

Fig. 4 a, b — Nutriția în cuibul artificial: a) granivoră — *Messor structor* Latr. (cu semințe de *Helianthus annuus* L.) și b) carnivoră — *Calaglyphis cursor aenescens* Nyl. (cu insecte consumate parțial de furnici).

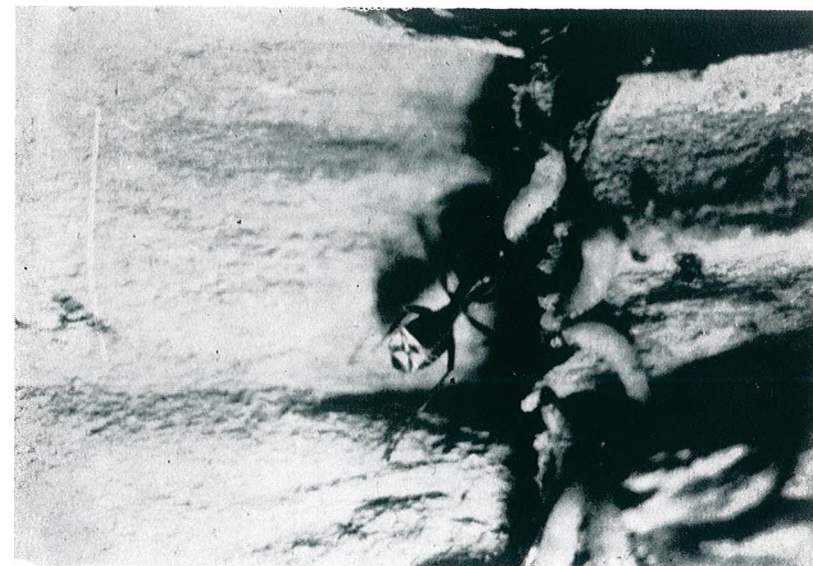


Fig. 5 — Marcarea furnicilor (etichete aplicate pe gaster) la specia *Camponotus vagus* Scop.



Fig. 6 — Influența umidității din cuibul artificial asupra modului în care depozitează semințele (*Messor structor* Latr.).



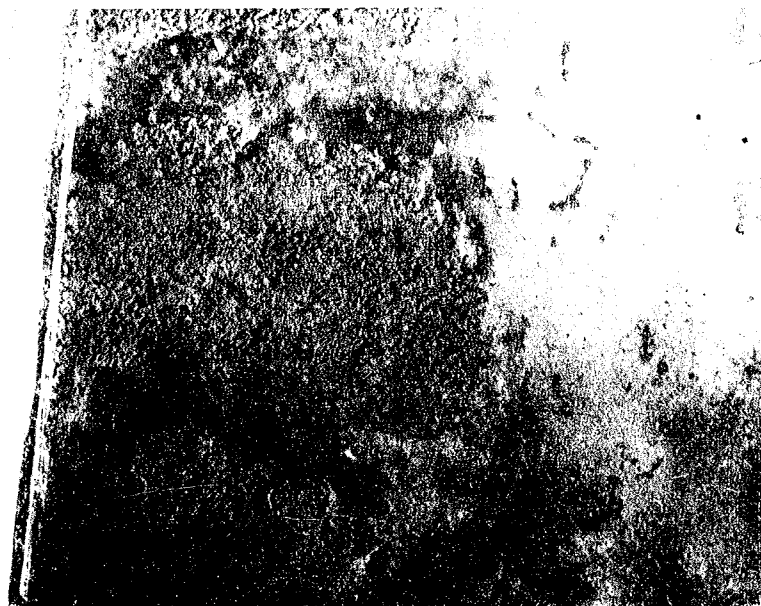


Fig. 7 — Unele aspecte biologice din cuibul artificial *Messor structor* Latr.

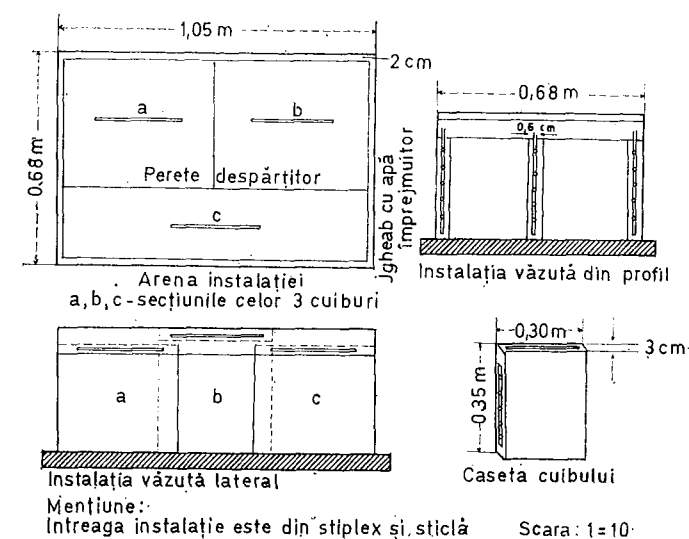


Fig. 8 — Date tehnice ale instalației.

În concluzie o astfel de instalație este absolut necesară pentru experimentări prealabile în laborator pentru o valorificare ulterioară eficientă din punct de vedere economic, datorită faptului că aceste specii pot fi folositoare în agricultură.

(Avizat de prof. Gr. Eliescu.)

#### BIBLIOGRAFIE

1. BARTH I., 1909, Ent. News Philad., **20**, 113—115.
2. BRUN H., 1912, Biol. Centralbl. **32**, 154—187, 216—226.
3. EIDMANN G., 1926, Z. Vgl. Physiol., **3**, 779—826.
4. EMERY C., 1909, Z. wiss. Insektenbiol., **5**.
5. FIELDE I., 1900, Biol. Bull., **2**, 81—85.
6. GOETSCH L., 1947, Z. Morphol. Ök., **10**, 253—419.
7. JANET L., 1897, Mem. Soc. Zool. France, **10**, 302—323.
8. KUTTER H., 1913, Z. wiss. Insektenbiol., **9**, 193—196.
9. LUBBOCK L., 1883, Ameisen, Bienen und Wespen, **4**, 128—135.
10. MEYER E., 1923, Biol. Zentralbl., **47**, 353—404.
11. MOLITOR I., 1932, Zool. Anz., **97**, 167—172.
12. PARASCHIVESCU D., 1967, Les insectes sociaux, **14**, 123—130.
13. SCHMITZ I., 1907, Ent. Wochenbl., **24**, 23—28, 121—138.
14. VIEHMEYER I., 1905, A.d. Heimat, **18**, 7—17.
15. WASSMAN I., 1906, Arch. trim. Inst. Gr. Duc. Luxemburg. Sect. phys. nat. **1—2**.
16. WHEELER G., 1910, *Ants, their structure development and behaviour*, New York.

Institutul de biologie „Tr. Săvulescu”  
Sectorul de ecosisteme terestre  
București 17, Splaiul Independenței nr. 296

Primită în redacție la 29 noiembrie 1972.

Profesorul Orest Marcu a fost mult preocupat de problemele specifice ale biogeografiei. El vedea în această disciplină nu o statică a răspîndirii speciilor, o înregistrare a nişelor lor ecologice, ci mai ales cauzele care duc la fenomenul de speciaţie (în sensul izolării unei grupe de consangvini a lui Racoviţă). S-a ocupat de biogeografia aproape a tuturor grupelor de nevertebrate, îmbinînd armonios anatomia şi ecologia, pentru a detecta fenomenul filogenetic pe care îl dezvoltă (*Coccinellidae*, *Chrysomelidae*, *Cerambycidae* etc.).

Nu a neglijat nici studiile de parazitologie pe păsări, mamifere şi peşti, unde a descris nu numai specii noi de paraziţi, dar mai ales comportamentul fizico-patologic al animalului parazitat.

Profesorul Orest Marcu a fost autor de cursuri de zoologie şi de biogeografie (zoo- şi fito-).

L-am cunoscut prima dată în 1942, fiind în comisia de candidatură pentru ocuparea postului de profesor de fiziologie animală la universitatea din Iaşi. Am rămas de atunci cu o adîncă admiraţie şi stimă faţă de omul principal şi cîştigat, faţă de savantul cu largi cunoştinţe din domeniul biologiei, faţă de dascălul-meşter iubit şi urmat de studenţi. Aceştia vorbeau cu încintare de excursiile organizate şi dirijate de profesorul Orest Marcu.

L-am avut apoi coleg la Cluj, unde întotdeauna a manifestat o adevărată ținută academică, o comportare socială ireproşabilă şi a fost pentru noi toţi, studenţi şi dascăli, un model în toate.

De peste 6 ani a rămas ca profesor consultant, continuînd să lucreze pe teren şi în laborator pentru a descoperi noi aspecte din viaţa atît de variată a celui mai imens grup de animale de pe pămînt care sînt insectele.

În urma sa a rămas o foarte valoroasă colecţie de insecte, pe care familia a donat-o Muzeului catedrei de zoologie din Cluj, cît şi numeroase manuscrise de lucrări neterminate. Printre aceste cîteva fascicule din *Fauna R.S. România*, care va trebui acum încheiată de către colegii de specialitate.

Opera ştiinţifică a profesorului Orest Marcu va rămîne ca o piatră de granit în biologia românească, de la care au pornit multe căi noi care duc azi la procesul de combatere biologică a dăunătorilor.

Eugen A. Pora

BUSNEL R.-G. (édité), *Les systèmes sonors animaux. Biologie et Bionique. (Sistemele sonore animale. Biologie şi bionică)*. Cours d'été OTAN, Frascati, Italia, 1966 (apărut în Franţa 1971) 2 vol., 1233 p.

De multă vreme în fiziologie se simţea nevoia unei puneri la punct a datelor biologice, fizice, tehnice, matematice etc. despre sistemele de informaţie ultrasonoră la animale. Materialul cursului (mai bine spus al simpozionului) de la Frascati, locul unde s-a născut Spallanzani (1729), cel care a descoperit fenomenul ecolocaţiei la liliac, vine acum să ne aducă o serie de date experimentale extrem de importante.

În cele două volume sînt cuprinse 30 de rapoarte făcute de cei mai cunoscuţi specialişti în bioacustică, care au fost trimise dinainte tuturor participanţilor, iar aceştia au prezentat în scris observaţiile lor, astfel că la Simpozionul de la Frascati s-a avut la dispoziţie un material complet, înainte de a fi prezentat, iar discuţiile ulterioare s-au purtat la un nivel de informare deja stabilit. Tocmai din felul acestei organizări şi a materialului astfel expus, valoarea celor două volume prezente depăşeşte tot ceea ce am aşteptat.

Sonarul, adică complexul de organe (sau aparate) care participă la percepţia ultrasonoră este un mijloc de explorare a mediului extrem de complex. Animalele care au servit la experienţe în toate cele 30 de rapoarte prezentate au fost: lilieci, delfinii, focle, morsele, fluturii de noapte şi bineînţeles omul, ca unul care poate folosi această aparatură ultrasonică (mai ales în cazul orbilor).

Materialul este sortat pe următoarele capitole: comunicări libere asupra unor noi fenomene de sonar în lumea animală; identificarea prin mijloace sonar; caracteristicile generale ale semnalelor acustice de orientare şi cîteva performanţe în sonarul lumii animale; rezistenţa la semnale interferente; acţiunea sonarului asupra celorlalte sisteme senzoriale; sonarul şi orbii; conţinutul social al unor impulsuri, altele decît cele folosite în ecolocaţie; structurile neurologice implicate în sistemul sonar biologic; teoriile sistemelor sonar şi aplicarea lor la animale; tipurile şi protocoalele de experienţe pentru a obţine rezultate comparative; discuţii generale.

Semnalez ca deosebit de noi materialele care se referă la influenţa sonarului asupra altor sisteme informaţionale, în care se arată acţiunea dăunătoare a unor sunete ultrasonice de mare intensitate şi de frecvenţă repetare. De asemenea, aplicarea sonarului la orbi constituie un fenomen foarte studiat şi cu rezultate promiţătoare pentru foarte curînd.

În discuţiile ce s-au publicat pe marginea fiecărui raport, inginerii şi matematicienii au adus puncte de vedere noi asupra interpretării unor rezultate obţinute de biologi, iar la rapoartele fizicienilor şi matematicienilor asupra modelului fizic sonar, biologii au completat schemele cu observaţii experimentale. Din această interferare de păreri s-a desprins utilitatea lucrului în comun, care este folositor atît pentru biologi, cît şi pentru fizicieni şi tehnicieni. În laboratoarele în care se cercetează un fenomen informativ, cum este cel despre care

se vorbește, azi nu se mai poate lucra cu rezultate bune, decît în combinații multilaterale de biologi, fizicieni, tehnicieni și matematicieni.

Neconcordanța care se poate evidenția într-un sistem biologic și unul fizic se datorește faptului că în cel dintîi sistemul nervos poate acumula informații și poate să le țină în rezervă pentru un moment cînd ceva cu totul „însesizabil încă” le declanșează determinînd un răspuns clar și precis, neașteptat. Animalele pot detecta un semnal slab emis de ele însele, într-un ansamblu de semnale mult mai puternice, tocmai din cauza „recunoașterii” semnalului propriu pe baza înmagazinării anterioare a unei memorii de semnale. Aspectul psihologic al sonarului nu a fost încă studiat și mai ales nu a fost aplicat la om.

Aș vrea să semnez că ni se prezintă aici și sistemul anatomo-funcțional al sonarului de la delfin și oarecum al tuturor legăturilor acestuia cu sistemul nervos central. Este pentru prima dată cînd începe să fie dezvăluit „misterul” ecolocației la delfin și explicat volumul mare al creierului acestui animal.

Profesorul Busnel, conducătorul laboratorului de fiziologie acustică din Jouy-en-Josas (Franța), unul din cei mai cunoscuți specialiști ai sonarului din lume, care a făcut numeroase aplicații sonore în agricultură (pentru combaterea unor păsări dăunătoare), a pus la dispoziția fiziologilor, biologilor, agricultorilor, a fizicienilor, tehnicienilor ingineri etc. un material extrem de valoros în aceste două volume de o prezentare ireproșabilă a sistemului xero. Graficele, fotografiile, tabelele și mai ales bibliografia fiecărui raport sau discuții aduc în fața noastră informația la zi asupra acestei probleme extrem de moderne a fiziologiei senzoriale. Este interesant de semnalat că din cei 75 de participanți 26 au fost din S.U.A., 22 din Franța, 10 din Anglia, 7 din R. F. Germania, cite 2 din Olanda, Italia, Danemarca și cite unul din Noua Zeelandă, Austria, Suedia, Japonia. Rezultatele aplicării sonarului ne interesează însă pe toți, atît pentru comunicații, cît și pentru combaterea unor dăunători sau pentru orientarea orbului în mediul sonor complex al vieții moderne.

Eugen A. Pora

G. CSABA, *Regulation of Mast Cell Formation (Reglarea formării mastocitelor)*, Ed. Akadémiai, Budapest, 1972, 144 p.

Evidențierea rolului imunobiologic al timusului a declanșat după 1960 o adevărată redescoperire a glandei, materialele informaționale pe această temă atingînd un volum impresionant. Se poate aprecia însă că ele aveau un caracter oarecum exclusivist, omițînd o serie de aspecte ale corelației timusului cu elementele constelației endocrine. Tocmai de aceea este de remarcă că în ultimul timp cercetători de renume ca Metcalf, Clark, Feldman sau Blomberg caută să integreze funcția imunologică a glandei într-o perspectivă mai largă, în care intervenția factorilor endocriini își găsească rolul natural.

În acest sens monografia prof. dr. G. Csaba, directorul Institutului de biologie de la Universitatea medicală „Semmelweis” din Budapesta, apare la momentul oportun, ca pe baza unei concepții și metodologii moderne să ne prezinte nu numai o expunere competentă asupra mastocitelor, dar și o aprofundare a unor funcții ale timusului, corelate cu aceste formațiuni. Competența autorului se explică prin faptul că are în atenție mastocitele, respectiv problema timusului, de aproape două decenii, și prefața lui H. Selye confirmă valoarea acestei activități. De fapt ea se înfățișează cititorului prin impecabilitatea imaginilor microscopice și electronmicroscopice, logica și criteriile de selectare a modelelor experimentale, interpretarea exigentă a rezultatelor și mai ales comentariile sau concluziile generale care le extrage pe marginea lor.

Ele sînt însoțite de numeroase scheme sintetice originale, care pot orienta și un lector neavizat în subtilitățile problemei. Materialul bibliografic, deși se bazează cu prioritate pe lucrările profesorului Csaba, este îmbinat cu comunicări fundamentale în care se înscriu numele lui Brachet, M. F. Burnet, Ginsburg, Jacob și Monod, Klug, Miller, Selye, Törő etc.

Monografia ne introduce în problemele fundamentale ale mastocitelor: geneză, diviziune și transformări, reglarea formării și activității lor în dependență de anumiți factori hormoni etc. Întrucît autorul studiază pe larg acțiunile glucocorticosteroizilor asupra mastocitelor timice, expunerea servește și la o mai amplă cunoaștere a acțiunii lor timolitice, respectiv a urmărilor și semnificației biologice a procesului de involuție acută a glandei. Ne satisface faptul că prof. Csaba nu se rezumă numai la timus, ci privește acțiunea hormonilor cortico-suprarenali în mod comparativ asupra întregului sistem timolinfatic.

În mod deosebit ne-am fixat asupra prezentării autoreglării sistemului de producere a granulelor mastocitare, în corelație cu sintezele de serotonină, heparină și histamină. Schema propusă se bazează pe concepțiile lui Jacob și Monod, pe care autorul o amplifică apoi într-o variantă asupra mecanismului prin care corticosteroizii induc acest proces. Semnalăm exigența dr. Csaba în munca sa de cercetare, însă atunci cînd consideră că dispune de o bază faptică corespunzătoare, construiește cu abilitate și o judecată fermă o serie de ipoteze sau teorii care au darul să cucerească și pe specialiști. În fine, menționăm ca de mari perspective introducerea în investigații a epifizei, care mai constituie o mare enigmă biologică.

Monografia prof. dr. G. Csaba este un exemplu de concizie și sinteză, reușind ca într-un număr redus de pagini să atingă problemele fundamentale ale mastocitelor. Lucrarea complexă se adresează interesului unei largi sfere de biologi atît pe plan teoretic, cît și practic, completînd o serie de probleme rămase în suspensie. Meritorii sînt și condițiile de publicare în limba engleză, asigurate de Editura Akadémiai, prin care monografia intră în circuitul internațional de informare științifică.

Virgil Toma

Edited by W. Beermann, *Results and Problems in Cell Differentiation*, Vol. 4. *Developmental Studies on Giant Chromosomes (Rezultate și probleme în diferențierea celulară)* Vol. 4. *Studii de dezvoltare pe cromozomii uriași*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1972.

Redescoperirea cromozomilor uriași politenici din glandele salivare de la diptere în 1933, cînd genetica era în plină dezvoltare, a avut o deosebită importanță pentru direcționarea liniilor sale de cercetare. Structura lor morfologică specifică cu alternanță de conformații în formă de discuri clare și întunecate, alternanță care le dădea un aspect striat specific, a permis cercetări de citogenetică de o deosebită finețe. Ca atare aproape întreaga orientare clasică a geneticii s-a deplasat spre analize prin observații citologice. Astăzi în cadrul geneticii moderne, odată cu descoperirea faptului că mărirea unor discuri din structura cromozomilor uriași în perioade larvare determinate — măriri care duc la conformații cunoscute sub denumirea de umflăturile și înțelele lui Balbiani (așa-numitele pufuri) este rezultatul intensificării funcționale a unor gene determinate, s-a ajuns la concluzia că studiul formării acestor umflături, a structurii și funcției lor este de o importanță capitală în cercetări asupra determinismului genetic al ontogenezei și al diferențierii celulare. Acesta este motivul pentru care prof. dr.

W. Beermann a centralizat 8 articole ale unor specialiști în studii pe cromozomii uriași în volumul al 4-lea al seriei consacrate problemelor diferențierii celulare. Volumul este un omagiu adus memoriei lui J. Schultz (1904–1971), unul dintre colaboratorii lui Morgan care și-a consacrat majoritatea timpului său de cercetare după 1933 studiului cromozomilor uriași politenici și este promotorul ideii că structura striată a acestor cromozomi este legată de activitatea sau inactivitatea genelor localizate aici.

În articolul inaugural al volumului, articol intitulat „Cromomere și gene” autorul, prof. dr. W. Beermann de la Institutul de biologie Max Planck din Tübingen, dezbate problema fundamentală a structurii morfologice a cromozomilor uriași și a relației dintre această structură și localizarea genelor. Autorul arată în concluzie că unitatea structuro-funcțională de bază a cromozomilor de la eucariote este cromomerul sau complexul cromomero-intercromomeric. De regulă o singură genă sau cistron pare să existe în interiorul fiecăruia dintr-un asemenea complex, complex care la cromozomii uriași corespunde unei unități disc-porțiune interdisc. Enorma variabilitate și potențialitate multiplă de la organismele superioare, alături de cea manifestată în filogeneză, cit și în ontogeneză, are la bază sistemul de control intranuclear. Dispoziția structurală a acestuia este bine manifestată în structura striată a cromozomilor uriași politenici. Din această cauză studii de dezvoltare pe asemenea cromozomi înseamnă un important pas înainte în atacarea problemei genei.

Articolul următor cu titlul „Cromozomi izolați din glandele salivare nefixate de Chironomus” aparține lui dr. M. Lezzi de la Institutul ETH din Zürich, și dr. M. Robert, de la Universitatea Saarland din Saarbrücken. În acest articol se arată metoda izolării unui singur cromozom uriaș din glandele salivare vii și rezultatele unor cercetări cu privire la proprietățile structurale și funcționale ale unui asemenea cromozom. Sunt descrise, cu această ocazie, structura regiunilor active și inactive, treptele procesului de activare, semnificația biologică a efectului ionic diferențiat asupra unor regiuni cromozomice.

Al treilea articol cu titlul „Replicarea în cromozomii uriași politenici” este redactat de dr. S. T. Rudkin de la Institutul de cercetări oncologice din Philadelphia și este consacrat în esență modului de formare a cromozomilor politenici. Sunt analizate o serie de experiențe care ne arată care este unitatea de replicare, modul replicării și care sunt mecanismele controlării replicării.

Articolul al patrulea este semnat de dr. C. Pelling de la Institutul de biologie Max Planck din Tübingen și este intitulat „Transcripția în umflăturile cromozomilor uriași”. El dezbate modul cum se realizează biosinteza ARN mesager în umflăturile și inelele lui Balbiani și se fac aprecieri asupra lungimii moleculelor de ARN transcrise la nivelul umflăturilor.

În articolul următor, al cincilea, scris de dr. M. Ashburner de la Universitatea din Cambridge, se tratează sub titlul „Modelajul umflăturilor la *Drosophila melanogaster* și la specii înrudite” modul dispunerii umflăturilor lui Balbiani la diferite specii de *Drosophila* și rezultatele unor experiențe care au dus la modificarea acestei dispuneri. S-a acționat cu hormoni, factori nutritivi, temperatură, diferite substanțe chimice ș.a. În concluzia datelor analizate se arată că ceea ce se cunoaște până azi despre natura și formarea umflăturilor lui Balbiani este destul de puțin. Deși formarea unora se află direct sub un control hormonal se știe încă prea puțin despre organizarea genetică a acestui sistem de control.

Al șaselea articol cu titlul „Relația dintre formarea umflăturilor, perii și diferențierea mugurilor locomotorii de la *Caliphora* și *Sarcophaga*” este întocmit de dr. D. Ribbert de la Universitatea din Münster și descrie procesul formării perilor și a conformațiilor locomotorii la cele 2 diptere, precum și relația acestor procese cu formarea de pufuri. Sunt detaliat prezentate rezultatele analizelor structurii cromozomilor uriași din celulele generatoare ale perilor și mugurilor locomotorii. Aceste rezultate au permis efectuarea unor deducții importante cu privire la mecanismele genetice ale formării acestor conformații la diptere.

Titlul celui de-al șaptelea articol este „Controlul formării de umflături la *Drosophila hydei*” și este redactat de dr. D. Berendes de la Universitatea din Nijmegen (Olanda). Aici sunt sintetizate date cu privire la geneza umflăturilor lui Balbiani la specia *D. hydei* și la posibilitatea inducerii artificiale a acestora. Se arată în ce măsură datele obținute contribuie la elucidarea activității diferențiale a genelor cu ocazia dezvoltării larvare și a diferențierii celulare.

Ultimul articol este semnat de dr. R. Panitz de la Academia de științe din Göttingen (R.D.G.) și se ocupă cu activitatea de formare a inelelor lui Balbiani la chironomidul *Aerictopus lucidus*. Cu această ocazie sunt dezbătute o serie de probleme interesante și importante ca: sinteza de ARN și formarea inelelor, reglarea formării inelelor ș.a.

În esență toate cele 8 articole cuprinse în ciclul consacrat studiilor de dezvoltare pe cromozomii uriași consolidează temeinic concluzia că asemenea studii sunt de prim ordin pentru lămurirea problemei controlului genetic al diferențierii celulare. Dat fiind actualitatea acestei probleme, valoarea articolelor cuprinse în ciclul mai sus amintit și a bibliografiei prezentate în ele, volumul al 4-lea al seriei consacrate biologiei dezvoltării trebuie să fie consultat de orice biolog și în special genetician care caută să fie la curent cu cele mai moderne aspecte ale biologiei contemporane.

Octavian Precup



Revista „Studii și cercetări de biologie — Seria Zoologie” publică articole originale de nivel științific superior, din toate domeniile biologiei animale : morfologie, fiziologie, genetică, ecologie și taxonomie. Sumarele revistei sînt completate cu alte rubrici ca : 1. *Viața științifică*, ce cuprinde unele manifestări științifice din domeniul biologiei, ca simpozioane, lucrările unor consfătuiri, schimburi de experiență între cercetătorii români și cei străini etc. 2. *Recenzii*, care cuprind prezentări asupra celor mai recente cărți de specialitate apărute în țară și peste hotare.

#### NOTĂ CĂTRE AUTORI

Autorii sînt rugați să înainteze articolele, notele și recenziile dactilografiate la două rînduri, în două exemplare. Tabelele vor fi dactilografiate pe pagini separate, iar diagramele vor fi executate în tuș pe hîrtie de calc. Tabelele și ilustrațiile vor fi numerotate cu cifre arabe. Figurile din planșe vor fi numerotate cu cifre arabe. Figurile din planșe vor fi numerotate în continuarea celor din text. Se va evita repetarea acelorași date în text, tabele și grafice. Explicația figurilor va fi dactilografială pe pagină separată. Citarea bibliografiei în text se va face în ordinea numerelor. Numele autorilor va fi precedat de inițială. Titlurile revistelor citate în bibliografie vor fi prescurtate conform uzanțelor internaționale. Lucrările vor fi însoțite de o prezentare a lucrării de maximum 10 rînduri în limba engleză. Textele lucrărilor nu trebuie să depășească 15 pagini dactilografiate (inclusiv bibliografia, explicația figurilor și tabelele).

Autorii au dreptul la un număr de 50 de extrase, gratuit.

Responsabilitatea asupra conținutului articolelor revine în exclusivitate autorilor.

Corespondența privind manuscrisele, schimbul de publicații etc. se va trimite pe adresa Comitetului de redacție, Splaiul Independenței nr. 296, București 17.

La revue „Studii și cercetări de biologie — Seria zoologie” paraît 6 fois par an.

Toute commande à l'étranger sera adressée ROMPRESFILATELIA, Boite postale 2001, telex 011631, Bucarest, Roumanie ou à ses représentants à l'étranger. En Roumanie, vous pourrez vous abonner par les bureaux de poste ou chez votre facteur.